VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE ADSORPTION VON MAKROMOLEKÜLEN UND BAKTERIEN AN PORÖSE KIESELSÄUREN

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung des Doktorgrades
der
Hohen Mathem.-Naturw. Fakultät
der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu

BONN

vorgelegt von

RITA KUGELMEIER
aus
Konstanz a.B.

BONN 1980

VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE ADSORPTION VON MAKROMOLEKÜLEN UND BAKTERIEN AN PORÖSE KIESELSÄUREN

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung des Doktorgrades
der
Hohen Mathem.-Naturw. Fakultät
der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu

BONN

vorgelegt von

RITA KUGELMEIER
aus
Konstanz a.B.

BONN 1980

Angefertigt mit Genehmigung der Mathematisch- Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Bonn

1. Referent: Prof. Dr. B. Wiedemann
2. Referent: Prof. Dr. H.J. Roth

Tag der mündlichen Prüfung: 6.3.1980

Pharmazeutisches Institut der Universität Bonn,
Geschäftsführender Direktor: Professor Dr. F. Müller

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Druck: Rheinische Friedrich- Wilhelms- Universität Bonn

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

1. EINFÜHRUNG 7
1.1. Diarrhoe 7
1.1.1. Definition 7
1.1.2. auslösende Ursachen 8
1.1.3. pathogenetische Mechanismen der Durchfallentstehung 8
1.1.4. heutige Therapie 16
1.1.5. Probleme der heutigen Therapie 19
1.1.6. Adsorptionstherapie 2o
1.2. PROBLEMSTELLUNG und ZIEL der vorliegenden Arbeit 21

2. ADSORPTION(Begriffe und LITERATURübersicht) 22
2.1.Adsorption von Kationen und kleineren Molekülen 23
2.2.Adsorption von größeren Molekülen 24
2.3.Adsorption von Viren 25
2.4.Adsorption von Bakterien 25

3. MATERIAL und METHODEN 28
3.1. MATERIAL 28
3.1.1. Eigenschaften der untersuchten Adsorbentien 28
3.1.1.1. Siliciumdioxid 29
3.1.1.1.1. Physikalisch-chemische Eigenschaften 29
3.1.1.1.2. Toxikologische Eigenschaften 32
3.1.1.2. Aktivkohlen 33
3.1.2. Eigenschaften der untersuchten Adsorptive 35
3.1.2 1. Methylenblau 35
3.1.2.2. Hämoglobin und Hämiglobin 36
3.1.2.3. Staphylokokken-Enterotoxin C_1 39
3.1.2.4. Escherichia coli 4o

Seite

3.2. METHODEN 41

3.2.1. Methoden zur Charakterisierung der Adsorbentien 41

3.2.1.1. Elektronenmikroskopische Untersuchungsmethoden 41

3.2.1.1.1.Objektträger 42

3.2.1.1.2.Präparation der Siliciumdioxidpräparate 43

3.2.1.1.3.Präparation der Aktivkohlepräparate 43

3.2.1.1.4.Aufbringen des Objektes auf den Objektträger 43

3.2.1.1.5.Auswahl der Strukturbereiche 43

3.2.1.1.6.Objekterwärmung und Strahlenschädigung 44

3.2.1.2. Bestimmung der spezifischen Oberfläche der Adsorbentien 44

3.2.1.3. Lichtabsorption des Siliciumdioxids 45

3.2.2. Identitätsprüfung des Hämoglobins 46

3.2.3. Adsorptionsmessungen 47

3.2.3.1. Bestimmung der Methylenblauadsorption 47

3.2.3.2. Bestimmung der Hämoglobinadsorption 48

3.2.3.3. Bestimmung der Staphylokokken-Enterotoxin-Adsorption 49

3.2.3.4. Bestimmung der Escherichia- coli- Adsorption 51

3.2.4. Desorptionsmessungen 53

3.2.4.1. Bestimmung der Hämoglobin- Desorption in Abhängigkeit von der Zeit 53

3.2.4.2. Bestimmung des Ausmaßes der Desorption in 1o Eluationsschritten 54

4. ERGEBNISSE 56

4.1. Ergebnisse der morphologischen Untersuchung 56

4.1.1. Gefällte Kieselsäure K_3 6o,82

4.1.2. Gefällte Kieselsäure K_1 62,84

4.1.3. Gefällte Kieselsäure K_6 64,84

4.1.4. Gefällte Kieselsäure K_7 66,85

4.1.5. Pyrogene Kieselsäuren K_8 und K_9 68,85

4.1.6. Gefällte Kieselsäure K_4 76,86

4.1.7. Aktivkohle AK_1 78,86

4.1.8. Aktivkohle AK_2 8o,86

4.2. Adsorptionsvermögen von verschiedenen Kieselsäuren und Aktivkohlen Seite

4.2.1. Adsorption von kleinen Molekülen; 89

Beispiel:Methylenblau 89

4.2.2. Adsorption von größeren Molekülen; 91

Beispiel:Hämoglobin 91

4.2.2.1. Aufnahme von Adsorptionsisothermen 91

4.2.2.1.1. für poröse Kieselsäuren 95

4.2.2.1.2. für unporöse Kieselsäuren 98

4.2.2.1.3. für Aktivkohlen 1oo

4.2.2.2. Fehlerbetrachtung und Auswertung des Adsorptionsverlaufes nach dem LANGMUIR-Modell 1o2

4.2.2.3. Desorptionsverhalten von Hämoglobin 11o

4.2.3. Adsorption von größeren Molekülen; 114

Beispiel: Staphylokokken-Enterotoxin C_1 114

4.2.3.1. Adsorption an verschiedene Kieselsäuren 114

4.2.3.2. Desorption 116

4.2.4.Adsorption von Bakterienzellen; 118

Beispiel:Escherichia coli

4.2.4.1. Makroskopisch und lichtmikroskopisch zu beobachtende Phänomene 119

4.2.4.2. Adsorption an die poröse Kieselsäure K_1 122

4.2.4.3. Adsorption an verschiedene andere Adsorbentien 123

4.2.4.4. Aufnahme einer Adsorptionsisotherme für die poröse Kieselsäure K_1 125

4.2.4.5. Fehlerbetrachtung und Auswertung des Adsorptionsverlaufes nach dem FREUNDLICH- Modell 131

5. DISKUSSION 135

5.1. Diskussion des Bakterienbindungsmechanismus 147

6. ANHANG 155

7. ZUSAMMENFASSUNG 169

8. LITERATURVERZEICHNIS 17o

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546506_0022

1. EINFÜHRUNG

1.1. Diarrhoe

1.1.1. Definition

Der Begriff Diarrhoe - Durchfall- bezeichnet zu häufige Entleerungen von in der Konsistenz verminderten Stühlen.
Während der n o r m a l e Stuhl eines Erwachsenen ein Gewicht unter 2oo g / 24 Std., einen Wassergehalt von 6o- 8o % besitzt und die Zahl der Entleerungen zwischen drei/Tag bis drei/Woche schwankt, ist bei der D i a r r h o e die Stuhlmenge auf über 2oo g / 24 Std., der Wassergehalt auf 6o- 95 % und die Zahl der Entleerungen auf mehr als drei Entleerungen / 24 Std. erhöht [1].
Die mit dem normalen Stuhl zur Ausscheidung gelangende Flüssigkeitsmenge beträgt nur etwa 1% der ca. 9ooo ml Wasser, die zusammen mit Elektrolyten täglich die Schleimhaut des Magen- Darm- Traktes in beiden Richtungen - d.h. Lumen ⟶ Plasma und Plasma ⟶ Lumen - passieren.
7 Liter dieser Wasser- und Elektrolytmengen stammen aus endogener Sekretion wie Speichel, Magensaft, Galle, Pankreassaft, Jejunalsekret, Ileumsekret und nur etwa 2 Liter aus exogener Zufuhr.
Während der Darminhalt im oberen Dünndarm durch passiv osmotisch gesteuerte Sekretion auf Plasmaosmolarität gebracht wird, kommt es im Ileum und besonders im Dickdarm zu einer starken Eindickung des Darminhaltes aufgrund verminderter Sekretion bei gleichbleibender resorbierter Menge.
Dies wird erreicht durch eine Abnahme der Schleimhautpermeabilität für die passive osmotisch gesteuerte Sekretion bzw. Resorption und durch aktive Resorptionsvorgänge* in distaleren Darmabschnitten [2].
Diese kontinuierliche Abnahme der Sekretion in distaleren Darmabschnitten erklärt die feste Konsistenz und den geringen Wassergehalt des normalen Stuhles.

* Der wesentliche aktive Mechanismus ist die Resorption von Natrium, dem passiv das Wasser folgt.

1.1.2. auslösende Ursachen

Dieses physiologische Flüssigkeitsäquilibrium kann durch verschiedene endogene oder exogene Noxen gestört werden und sich als Diarrhoe manifestieren:
So können z.B. pathogene Keime die normale physiologische Flora überwuchern oder eine pathologische Erhöhung der Keimzahlen in oberen Dünndarmabschnitten bzw. des Magens auftreten.
Diese Keime oder die von ihnen freigesetzten Toxine können über verschiedene Mechanismen das intestinale Flüssigkeitsäquilibrium stören und zu einer Diarrhoe führen.
Auch verschiedene Protozoen, Viren, Pilze und Hefen können Ursache von Durchfallerkrankungen sein.
Neben diesen infektiösen Noxen spielen auch andere exogene Noxen wie z.B. verschiedene Arzneimittel eine Rolle.
Auch Substanzen wie körpereigene Gallensäuren sowie nicht abgebaute Fettsäuren können, wenn sie infolge Malabsorption ins Colon gelangen, eine Diarrhoe verursachen, die sogenannte chologene Diarrhoe.
Bei einigen Durchfallerkrankungen werden auch Hormone und Prostaglandine für die Durchfallentstehung verantwortlich gemacht.
Erwähnt seien auch Resektionen des Darmes oder des Magens als Durchfallursache. So führt eine Resektion des Ileums(Ort der Rückresorption der Gallensäuren) zur Störung des enterohepatischen Kreislaufes der Gallensäuren mit daraus resultierender chologener Diarrhoe. Dünndarmresek - tionen von mehr als 5o% führen zu Diarrhoe, die bei Resektionen über 7o% bedrohliche Ausmaße annehmen kann.

1.1.3. pathogenetische Mechanismen der Durchfallentstehung

Die Möglichkeiten des Darmtraktes, auf die sehr verschiedenartigen Noxen zu reagieren, beschränken sich auf wenige veränderliche funktionelle Größen.
Der Intestinaltrakt reagiert durch Veränderung einer oder mehrerer der

folgenden Parameter:

Resorption
aktiver Transport
Osmolarität
Permeabilität
Mikrozirkulation
Regeneration der Mukosazellen
sowie durch veränderte Darmmotilität

Diese begrenzten Reaktionsmöglichkeiten des Darmes erklären die weitgehend ähnliche Symptomatik der kurz als Diarrhoe bezeichneten Darmerkrankungen trotz der Komplexität der auslösenden Ursachen.

Bei der akuten, infektiösen Diarrhoe können trotz ähnlicher, jedoch nicht gleicher Symptomatik d r e i verschiedene pathogenetische Mechanismen und damit drei Gruppen von ursächlichen pathogenen Erregern unterschieden werden(vgl. Tab. 1).

Repräsentanten der e r s t e n Gruppe sind Vibrio cholerae,der Erreger der Cholera und bestimmte Enterotoxin- bildende enteropathogene Escherichia coli(non- vibrio- cholera) Stämme.Letztere sind häufige Erreger der Reisediarrhoe. Sie erzeugen Durchfall als Folge aktiver Elektrolytsekretion der Darmschleimhaut.
Das hier zugrundeliegende, im folgenden beschriebene Wirkprinzip hat eine zentrale Bedeutung in der Durchfallentstehung:
Nach oraler Aufnahme der Keime kommt es zu einer massiven Besiedlung des oberen Dünndarms mit den Erregern. Diese lagern sich an die Mukosazellen an, ohne jedoch in sie einzudringen. Die Mukosa wird dabei nicht geschädigt und bleibt makroskopisch, lichtmikroskopisch und elektronenmikroskopisch unverändert [3].
Von hier aus erfolgt die Freisetzung von Enterotoxinen.
Das freigesetzte Toxin wird innerhalb kurzer Zeit am Bürstensaum der Darmschleimhautmembran adsorbiert, dringt jedoch nicht in die Schleimhaut und damit nicht weiter in den Wirtsorganismus ein.
Das an die Dünndarmzellen adsorbierte Toxin stimuliert die Adenylat-Cyclase, die sich in der Zellmembran der intestinalen Mukosazellen (Jejunum) befindet und die Umwandlung von Adenosintriphosphat in cyklisches 3',5'- Adenosinmonophosphat(cAMP)katalysiert.

Dies führt zu einer vermehrten Bildung von cyclo- AMP. Dieses cAMP induziert Synthesevorgänge von Eiweißen und Enzymen in der Zelle [3] und führt zu einer massiven Sekretion in das Darmlumen.
Dabei werden Anionen wie Chlorid und Bicarbonat sezerniert, passiv folgen Natrium, Kalium und Wasser[4].
Zu betonen ist, daß die Resorptionsfähigkeit des Darmes für Elektrolyte, Zucker und Aminosäuren vollständig erhalten bleibt und die Diarrhoe also ausschließlich auf einer Sekretion beruht.
Diese durch Toxin stimulierte Sekretion ist weitgehend auf den Dünndarm beschränkt[5]. Das Colon wird durch das Toxin kaum beeinflußt, jedoch ist seine Resorptionskapazität bei dem großen Flüssigkeitsangebot überfordert [3].

Der wesentliche Unterschied zwischen der dem gleichen Mechanismus unterliegenden Cholera und der durch Enterotoxin- bildende E.coli verursachten Reisediarrhoe liegt in der Schwere der Erkrankung. Letztere führt zu einem geringeren Wasser- und Elektrolytverlust bei kürzerer Dauer der Symptome, vermutlich als Folge der unterschiedlichen Verweildauer der Bakterien im Dünndarm(E.coli: 24- 26 Std., Vibrio cholera: 4- 8 Tage).

Neben Vibrio cholerae und toxinbildenden enteropathogenen E.coli können auch verschiedene andere Bakterien wie z.B.

Staphylococcus aureus
Clostridien
und bestimmte Shigellaarten

sekretionserzeugende Toxine freisetzen, so daß dieser oben beschriebene Mechanismus möglicherweise auch einer Reihe von anderen Durchfallerkrankungen zugrundeliegt.

Die Prostaglandine -biologisch aktive Lipide, die auch von einigen Tumoren gebildet werden- können über den gleichen Mechanismus choleraähnliche Durchfälle erzeugen.
Daneben verursachen die von Non- Betainselzelltumoren gebildeten Hormone GIP(gastric inhibitory polypeptide) und VIP(vasoactive intestinal polypeptide) eine starke Sekretion in das Darmlumen und führen zu einer sogenannten pankreatischen Cholera.

Der z w e i t e Mechanismus ist der der Salmonellendiarrhoe.
Er ist bis heute nur teilweise geklärt.
Bei den Salmonellen durchdringen die Keime die Mukosa, schädigen diese jedoch nicht. Die Keimkonzentration in dem submukösen lymphatischen Gewebe ist hoch. Es zeigt eine massive Schwellung.
Der Durchfall beruht hier auf einer vermehrten Wasser- und Elektrolytsekretion und einer verminderten Resorption im terminalen Ileum.
Salmonellen neigen zur Systeminvasion, so daß streng zwischen der hier interessierenden auf den Darm beschränkt bleibenden gastroenteritischen Salmonellose und der systemischen Salmonelleninfektion, dem Typhus, unterschieden werden muß.

Vertreter des d r i t t e n Mechanismus sind die Shigellen, die Erreger der Bakterienruhr(Shigellosis).
Die Shigellen dringen mit Hilfe eines proteolytischen Enzyms [5] in die Mukosa ein und schädigen sie, was sich in oberflächlichen Ulzerationen äußern kann.
Die höchsten Keimkonzentrationen herrschen hier nicht wie bei den Salmonellen in der Submukosa, sondern in den Epithelzellen der Mukosa.
Das infizierte Epithel geht unter Freisetzung der Keime zugrunde, die dann weitere Epithelzellen infizieren. Im Gegensatz zu den Salmonellosen bleibt eine Shigellosis meist auf den Darmtrakt beschränkt.
Zur Diarrhoe kommt es durch Transsudation und Exsudation aus den lädierten Darmabschnitten.
Die pathogenetische Funktion der von einigen Shigellenstämmen gebildeten Exotoxine ist weitgehend ungeklärt.
Vermutlich einem ähnlichen Mechanismus wie die Shigellen unterliegen eine zweite Art enteropathogener E.coli(Shigella- like- E.coli) Stämme, die keine Toxinbildner sind und enteroinvasive Eigenschaften haben.
Die Erreger dringen in die Mukosa des Dickdarmes ein und erzeugen ein ruhrähnliches Krankheitsbild.
Bei der akuten Amöbiasis * kommt es ebenfalls zu einer Invasion in das Gewebe.

---

* Es muß zwischen einer symptomfreien Symbiose des Wirtsorganismus mit den Amöben und einer akuten Amöbiasis unterschieden werden. Letztere setzt eine Virulenzsteigerung des Erregers und eine Resistenzminderung des Wirtsorganismus voraus.

Im folgenden soll kurz auf w e i t e r e Durchfallerkrankungen und , soweit bekannt, auf die ihnen zugrundeliegenden Mechanismen eingegangen werden.

Die Staphylokokken- Gastroenteritis, die sogenannte Nahrungsmittelvergiftung, wird durch ein hitzestabiles Enterotoxin überwiegend von Staphylococcus aureus hervorgerufen und äußert sich in Erbrechen und wäßrigen Durchfällen.

Neben dieser prognostisch meist günstigeren Staphylokokken- Gastroenteritis sei die lebensbedrohliche antibiotikabedingte akute Enterocolitis, z.B. Staphylokokken- Enterokolitis, erwähnt. Dieser toxische Zustand mit schwersten Durchfällen kann während einer Antibiotikatherapie *1 zwischen dem 2.und 8. Behandlungstag beginnen.
Die Ursache des Zustandekommens antibiotikabedingter Diarrhoen ist komplex:
Die Antibiotika reduzieren die normalerweise vorhandenen Darmbakterien so stark, daß die Bakterienflora zugunsten unphysiologischer Bakterienstämme wie resistenten Staphylokokken, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, Proteus mirabilis und Candida albicans verändert wird. Neben einer Zunahme der Keimzahl und einem Überwuchern von Pilzen kommt es zu einer Keim- und Pilzbesiedlung auch höherer Darmabschnitte.
Aus der bakteriellen Besiedlung resultiert eine Sekretion, einerseits durch eine bakterielle Spaltung von Nahrungsbestandteilen mit einem Anstieg der luminalen Osmolarität, andererseits durch eine bakterielle Giftung von Gallensäuren*2 und Fettsäuren und schließlich durch eine Freisetzung von Toxinen.

---

*1 meist mit Ampicillin, Tetracyclin, Lincomycin, Clindamycin

*2 Der pathogenetische Mechanismus der bakteriellen Giftung wird genauer bei der "chologenen Diarrhoe" beschrieben(vgl. S. 14).

Tab. 1 : Erreger infektiöser Diarrhoen

Durchfallerkrankung	Erreger
Cholera	Vibrio cholerae
Salmonellosen*1:	
a)gastroenteritische Salmonellose	Salmonella enteritides Salmonella typhi- murium
b)Typhus abdominalis	Salmonella typhi Salmonella paratyphi A und B
Shigellosis(Bakterienruhr)	ektotoxinbildende Arten: Shigella dysenteriae
	nicht ektotoxinbildende Arten: Shigella flexneri Shigella sonnei
Coli- Enteritis	enteropathogene Escherichia coli: a)Enterotoxin-bildende, nichtinvasive*2 E.coli b)nicht Enterotoxin- bildende, invasive E.coli
Reisediarrhoe(Touristendiarrhoe)	oft enteropathogene Stämme von E.coli, selten Vibrionen, Salmonellen, Shigellen, Citrobacter, Edwardsiella, Yersinien, Lamblien, Amöben
Staphylokokken- Gastroenteritis	Staphylococcus aureus
Staphylokokken- Enterokolitis	enteropathogene Staphylokokken
Enteritis necroticans	Clostridium welchii, Bacillus anthracis
Amöbiasis intestinalis	Entamoeba histolytica
Lambliasis intestinalis	Giardia lamblia
Malariaenteritis*3	Plasmodium falciparum
Virusenteritis	Rotaviren, Echoviren
Candidiasis	Candida albicans

*1 Salmonellen können je nach Dosis und Virulenz sowie Abwehrkraft des Menschen zu einer akuten Gastroenteritis oder zur systemischen typhösen Infektion, dem Typhus abdominalis führen.

*2 "invasiv" bezeichnet die Fähigkeit des Erregers, in das Gewebe der Darmwand einzudringen.

*3 Die Malaria tropica kann wie eine akute Enteritis verlaufen.

Die Ursachen einer pathologischen Keimbesiedlung des Dünndarms können sehr verschieden sein, die Folgen einer bakteriellen Besiedlung sind jedoch weitgehend gleich.
So gelten die bei der Staphylokokken- Enterocolitis beschriebenen Durchfall auslösenden Ursachen vermutlich auch bei anderen Durchfallerkrankungen.
So kann es nach therapeutischen Dosen bei der Rheumatherapie mit Indometacin zu einem starken mikrobiellen Befall des Dünndarminhaltes [2] und daraus nach dem obigen Mechanismus resultierender Diarrhoe kommen.

Auch der Durchfall bei Diabetes kann in etwa 2o% der Fälle auf ein gesteigertes bakterielles Wachstum im Magen und oberen Dünndarm zurückgeführt werden [6].

Zu erwähnen ist weiterhin die sogenannte "chologene Diarrhoe" .
Normalerweise durchlaufen die für die Fettresorption notwendigen Gallensäuren sechs- bis achtmal den sog. enterohepatischen Kreislauf, d.h. die Gallensäuren werden zu etwa 95% im Ileum rückresorbiert und mit der Galle wieder in den Dünndarm sezerniert. Die normalerweise geringen Gallensäureverluste werden durch die Neusynthese in der Leber ersetzt.
Fällt das Ileum durch Resektion oder chronisch entzündliche Darmerkrankungen (Morbus Crohn) aus, gelangen große Mengen der Gallensäuren in das Kolon und werden durch die Normalflora des Dickdarms gegiftet. Diese bakterielle Giftung der Gallensäuren kann auch im Dünndarm auftreten, wenn dort eine pathologische bakterielle Besiedlung herrscht.
Bei dieser sogenannten bakteriellen Giftung werden die Gallensäuren durch den Kontakt mit Bakterien dekonjugiert und damit unfähig zu der für die Fettverdauung und die Rückresorption im Ileum notwendigen Mizellbildung. Weiterhin können Cholsäure(Trihydroxycholansäure) bakteriell zu Desoxycholsäure(Dihydroxycholansäure) hydriert werden.
Durch bakteriellen Einfluß werden auch Fettsäuren zu Hydroxyfettsäuren hydroxyliert.
Die gebildeten dekonjugierten Gallensäuren, in noch stärkerem Maße die Desoxycholsäure und die Hydroxyfettsäuren sind als potente Sekretionsstimuli für die Durchfallentstehung verantwortlich.

Weitere Ursachen einer Diarrhoe können Parasiten wie Amöben und Lamblien sein.
Auch die Malaria tropica kann wie eine akute Enteritis verlaufen, d.h. es stehen blutige Durchfälle im Vordergrund.

Schließlich sei noch erwähnt, daß in seltenen Fällen auch Viren für Durchfallerkrankungen verantwortlich sein können, wie z.B. die Rotaviren(synonym Duoviren) und ECHO- Viren.
Auch zahlreiche andere Viruserkrankungen können mit Durchfall einhergehen, wobei die Viruserkrankung nie auf den Darmtrakt beschränkt bleibt.

Auf weitere Diarrhoen, wie z.B. chronisch entzündliche Darmerkrankungen (M.Crohn und Colitis ulcerosa), weiterhin auf Malabsorptionssyndrome, Sprue und intraabdominelle Ischämien sei nur der Vollständigkeit halber verwiesen.

Die S y m p t o m e der verschiedenen Durchfälle werden weitgehend durch das invasive Verhalten der Erreger bestimmt.
Nichtinvasive Erreger(Choleravibrionen, nichtinvasive,Enterotoxin-bildende E.coli; Enterotoxin-bildende Staphylokokken, Viren) führen zu wäßrigen, unblutigen Diarrhoen.
Dagegen zeigen Eiter-, Schleim- und Blutbeimengungen des Stuhles das invasive Verhalten der Erreger(Shigellen, invasive,nichttoxinbildende E.coli, Amöben).
Bei der Staphylokokken- Enterokolitis reichen die Symptome je nach Toxizität der Bakterien bzw. der produzierten Toxine von breiförmigem Stuhl bis zu blutig- eitrigem Durchfall.

Unter den s y s t e m i s c h e n Auswirkungen einer akuten Diarrhoe steht der Wasser- und Elektrolytverlust an erster Stelle. Dabei kann die Dehydratation bedrohliche Ausmaße annehmen(z.B. bei der Cholera und der Säuglingsdiarrhoe).

Zur H ä u f i g k e i t von Durchfallerkrankungen sei gesagt, daß 1977 in der Bundesrepublik Deutschland 32ooo Fälle an gastroenteritischen Salmonellosen gemeldet wurden.
Weiterhin sind Durchfälle die häufigste gesundheitliche Störung bei Europäern oder Amerikanern bei Reisen in warme Länder.
Schließlich sei betont, daß im Kindesalter weltweit infektiöse Durchfallerkrankungen zu den fünf wichtigsten Krankheits- und Todesursachen gehören.

Zur B e d e u t u n g der Diarrhoe als Todesursache sei auf einen Bericht der Weltgesundheitsorganisation verwiesen, wonach 1972 in Ägypten 33% und in Mexiko 15% aller Todesfälle auf Diarrhoe zurückzuführen waren und 1973 in Italien neben 25 Cholerapatienten weitere 3ooo an Durchfall anderer Pathogenese starben [7].

Die zur Auslösung infektiöser Diarrhoen erforderlichen i n f e k t i ö s e n D o s e n liegen bei invasiven Shigellenstämmen bereits bei wenigen Hundert Keimen, während bei den Choleravibrionen und enterotoxinbildenden E.coli eine große Erregerzahl(enterotoxinbildende E.coli:10^8 bis 10^{10}Keime) oral aufgenommen werden muß, um Krankheitssymptome auszulösen, wobei die Infektion bei Untersäuerung des Magens leichter angeht [4].

1.1.4. heutige Therapie

Alle schweren Diarrhoen bedürfen einer Therapie.
Bei Diarrhoen mit starkem Wasser- und Elektrolytverlust(Cholera, Staphylokokken- Gastroenteritis, Diarrhoen durch Enterotoxin-bildende E.coli)ist die wichtigste Allgemeinmaßnahme der rasche Ersatz von Wasser und Elektrolyten durch die orale Zufuhr einer glucosehaltigen Elektrolytlösung*.

---

* Die oral zugeführte Lösung(5oo- looo ml pro Stunde in der akuten Phase) sollte im Idealfall 2o g Glucose
4 g NaCl
4 g $NaHCO_3$
2 g KCl pro looo ml enthalten.

Grundlage dieser oralen Flüssigkeitszufuhr ist einerseits die Tatsache, daß bei den meisten infektiösen Diarrhoen die intestinale Absorption für Wasser, Glucose und Elektrolyte nicht beeinträchtigt ist und andererseits die Kenntnis, daß Glucose die Resorption von Natrium und Wasser zu steigern vermag [5].
Der orale Flüssigkeitsersatz brachte bei Choleraepidemien in Bangladesh überraschende Erfolge [4].

Als weitere Maßnahme ist die bei zahlreichen Durchfallerkrankungen erforderliche C h e m o t h e r a p i e zu nennen, wobei neben spezifisch wirksamen synthetischen Chemotherapeutika , Alkaloiden und Antibiotika auch Adsorbentien eingesetzt werden.
Während Antibiotika überwiegend gegen durch Bakterien und Pilze ausgelöste Durchfälle eingesetzt werden, spielen synthetische Chemotherapeutika überwiegend bei der Bekämpfung von Protozoenerkrankungen eine Rolle [8].
Eine genaue Übersicht der Chemie und Anwendung verschiedener Darmchemotherapeutika gibt Roth [8].
Im folgenden sei nur kurz auf die Chemotherapie der bereits genannten, auf den Darm beschränkt bleibenden Durchfallerkrankungen eingegangen (vgl.Tab.2).
Indikationen zu einer spezifischen Antibiotikatherapie sind überwiegend Diarrhoen bakterieller Ursache oder alle Störungen durch bakterielle Überwanderung im Dünndarm, wie Shigellosen, weiterhin Erkrankungen durch enteroinvasive Escherichia coli oder durch enterotoxinbildende E.coli bei schwerem Verlauf und schließlich chologene Diarrhoen und diabetische Diarrhoen, sofern sie auf einer Bakterienproliferation im Dünndarm beruhen(vgl. Tab. 2).
Bei der antibiotikabedingten Staphylokokken- Enterocolitis ist heute eine konsequente antibiotische Behandlung mit einem staphylokokken- wirksamen Antibiotikum eine mögliche Therapie, während H.Spitzy [9] die Bedeutung der Adsorptionstherapie mit Siliciumdioxid schon 1966 erkannte.
Daneben wird heute jede schwere Enteritis im Säuglingsalter antibiotisch behandelt [10].

Tab. 2:
Heutige Therapie der genannten Durchfallerkrankungen

Durchfallerkrankung	heutige Therapie
Cholera	ausreichende Elektrolyt- und Wassersubstitution, Tetracycline, Chloramphenicol (bzw. Sulfonamide)
Coli- Enteritis durch Enterotoxin- bildende E.coli	ausreichende Elektrolyt- und Wassersubstitution, nicht resorbierbare Antibiotika bzw. Sulfonamide, Adsorbentien
gastroenteritische Salmonellosen	von einer Antibiotikatherapie wird abgeraten*
Shigellosis durch enteroinvasive Shigellen Coli- Enteritis durch enteroinvasive E.coli	Ampicillin (Tetracyclin, Aminoglykosidantibiotika, Polypeptidantibiotika)
Staphylokokken- Gastroenteritis (Nahrungsmittelvergiftung)	ausreichende Elektrolyt- und Wassersubstitution
Staphylokokken-Enterokolitis	staphylokokken-wirksames Antibiotikum, Adsorptionstherapie mit SiO_2
chologene Diarrhoe (bakteriell bedingt)	(Cholestyramin zur Bindung der Gallensäuren), Antibiotika (Tetracyclin), Adsorptionstherapie mit SiO_2
Amöbiasis intestinalis	8- Hydroxychinoline oder Rivanol, Tetracycline, Phenanthroline, Aminoglykosidantibiotika (Neomycin B, Paromomycin I, Kanamycin A)
Lambliasis intestinalis	Acranil, Metronidazol
Candidiasis	Polyenantibiotika (Nystatin, Amphotericin B)

* bei Typhus aber Chloramphenicol

Dagegen von einer Antibiotikatherapie abgeraten wird heute bei unkomplizierten Durchfällen, ferner bei gastroenteritischen Salmonellosen*. Bei letzteren hat sich gezeigt, daß die Zahl der postenteritischen Keimausscheider und die Ausscheidungsdauer durch eine Antibiotikatherapie gegenüber unbehandelten Patienten eher verlängert wird [4].

Hauptindikationsgebiet der 8- Hydroxychinoline ist die intestinale Amöbiasis. Sie werden jedoch auch heute noch bei zahlreichen anderen Durchfallerkrankungen angewandt(z.B. bei der Reisediarrhoe).

1.1.5. Probleme der heutigen Therapie

Die Vielzahl der heute zur Verfügung stehenden Darmchemotherapeutika darf jedoch nicht über die Tatsache hinwegtäuschen, daß zahlreiche T h e r a p i e p r o b l e m e bestehen.

Die Problematik der Durchfalltherapie besteht darin,

a) daß Antibiotika bei vielen Diarrhoen nicht oder nur wenig wirksam sind (z.B. bei Salmonellosen, Cholera, Shigellosen, Diarrhoen durch enterotoxinbildende E.coli, Clostridium welchii und Viren),

b) daß bei jeder Antibiotika- Therapie das ökologische Gleichgewicht durch Reduktion physiologischer Anteile der Darmflora gestört wird. In der Folge siedeln sich resistente Mikroorganismen, die ihrerseits wieder pathogen sein können, z.B. Candida albicans und Clostridien,an;

c) daß unter dem Selektionsdruck der Antibiotika Resistenzfaktoren von der physiologischen Flora auf die pathogenen Bakterien übertragen werden können, die dadurch resistent gegenüber der Chemotherapie werden;

---

*Bei systemischen Salmonellosen(Typhus) sind Antibiotika natürlich unerläßlich.

d) daß eine bei chronischen Diarrhoen erforderliche Langzeittherapie über Monate und Jahre eine zusätzliche Belastung des Patienten durch die Nebenwirkungen der Chemotherapeutika darstellt;

e) daß einige der genannten Therapeutika (vgl. Tab.2) eine beachtliche Toxizität zeigen;
Beispiele seien hier die inzwischen bekanntgewordenen ernsten Nebenwirkungen -subakute myelooptische Neuropathie(SMON)- der bis dahin viel verwendeten halogenierten 8- Hydroxychinoline, weiterhin die Toxizität des Chloramphenicols und des Amphotericin B.

f) daß es keine spezifische Therapie der durch ausgedehnte Dünndarmresektionen bedingten Diarrhoen gibt;

1.1.6. Adsorptionstherapie

Die genannten Therapieprobleme geben Anlaß, sich einer Alternativtherapie zuzuwenden, der sogenannten Adsorptionstherapie.
Die zwar altbekannte Adsorptionstherapie eröffnet erst durch das Aufkommen neuer synthetischer hochaktiver Adsorbentien neue Aspekte und große Möglichkeiten.
Obwohl der Wirkungsmechanismus von Adsorbentien bisher nicht eindeutig geklärt werden konnte, wurden verschiedene adsorbierende Substanzen rein empirisch in der Vorstellung angewandt, Bakterien und deren Toxine zu binden.
Die Grundidee der Adsorptionstherapie ist sehr alt und kann bis ins Altertum zurückverfolgt werden.
Schon zu Homers Zeiten(9.Jahrhundert v.Chr.) wurde eine bestimmte Erde als Adsorbens geschätzt. Zur Zeit Hippokrates(46o-377 v.Chr.)unterschied man bereits verschiedene Erden als Adsorbentien.
Dioskurides(1.Jahrh.n.Chr.) erkannte erstmalig deutliche Unterschiede in der Qualität verschiedener Erden.Galen(129-2o1 n.Chr.) gab Tonerden bereits speziell bei Diarrhoen, insbesondere der Shigellosis und bei Vergiftungen. Von der Mitte des 19.Jahrhunderts bis 1914 wurden weniger die Erden als vielmehr weißer Ton -Bolus alba- benutzt. In der Folgezeit löste die Kohle -Carbo medicinalis- weitgehend die Erden und Tone ab [11], weil diese zur Konkrementbildung führen können.

1.2. Problemstellung und Ziel der vorliegenden Arbeit

Heute verbindet man mit dem Begriff Adsorptionstherapie meist noch eine Therapie mit den genannten natürlichen Adsorbentien also z.B. Aktivkohle, Heilerden, Tone, weiterhin mit Pectin oder Tannin.

Die vorliegende Arbeit soll sich jedoch mit einem relativ neuen synthetischen Adsorbens, dem amorphen Siliciumdioxid befassen.
Im Gegensatz zu den natürlichen Adsorbentien zeichnet sich Siliciumdioxid aufgrund seines synthetischen Charakters durch einen definierten, gleichbleibenden , für die Adsorption a priori besonders günstig erscheinenden morphologischen Feinbau aus.
Ein standardisiertes poröses Siliciumdioxid befindet sich seit einigen Jahren bereits im Handel* und wird zur Therapie akuter und chronischer Diarrhoen, überwiegend infektiöser Natur , eingesetzt.
Die überraschend guten Therapieerfolge dieser Substanz z.T. auch bei schwersten Diarrhoen(z.B. Staphylokokken-Enterocolitis) und die noch nicht genau geklärten zugrundeliegenden Wirkungsmechanismen geben Anlaß zu dieser Arbeit.

Ziel dieser Arbeit ist es , zu klären, ob die Adsorptionstherapie mit Siliciumdioxid die in der Diarrhoe-Therapie noch bestehende Therapie-Lücke zu füllen vermag, bzw. eine wirksame Alternative zur heutigen Therapie darstellt.
Zur Beurteilung seiner therapeutischen Wirksamkeit ist die Klärung der zugrundeliegenden Wirkungsmechanismen Voraussetzung.
Diese sollen in vitro anhand von

a) morphologischen Untersuchungen
b) Adsorptionsversuchen
c) Desorptionsversuchen

analysiert werden.

---

* Entero-Teknosal(Fa.Taco)

2. ADSORPTION (Begriffe und LITERATURübersicht)

a) Begriffe

Da es für die Nomenklatur auf dem Gebiet der Adsorption noch keine allgemeinen Richtlinien gibt, seien einige Begriffe erläutert.
Unter Adsorption versteht man die Anreicherung von Atomen und Molekülen an einer Grenzfläche. Den aufnehmenden Stoff nennt man Adsorbens, die an seiner Grenzfläche zu bindende Materie Adsorptiv. Die bereits gebundene Form des Adsorptivs wird Adsorpt genannt. Die durch Wechselwirkung zwischen einem Adsorbens und einem Adsorptiv entstehende Adsorptionsphase wird als Adsorbat bezeichnet.

$$\text{Adsorbens} + \text{Adsorptiv} \longrightarrow \text{Adsorbat}$$

Die Desorption stellt die Dissoziation des Adsorbats dar [12].

Zahlreiche Feststoffe sind zur adsorptiven Bindung von Fremdatomen, - molekülen und - partikeln auf Grund nicht abgesättigter Valenzen der Atomgruppierungen in der Oberfläche befähigt.
Die an der Oberfläche wirksamen Anziehungskräfte - Adsorptionskräfte - können unterschiedlicher Natur sein und mehr oder weniger feste Bindungen bedingen. Findet an der Adsorbensoberfläche eine chemische Reaktion statt, so spricht man von Chemisorption. Jedoch lassen sich die entstehenden Oberflächenverbindungen nicht zu den reinen chemischen Verbindungen zählen, denn die Atomgruppierungen der Feststoffoberfläche sind nach der Chemisorption nach der Innenseite noch Strukturbestandteile der festen Phase, nach außen mit den chemisorbierten Atomgruppen durch chemische Bindungen verknüpft.
Neben der Chemisorption gibt es die Physisorption; der Übergang zwischen beiden Bindungsformen ist fließend.
Bei der Physisorption kann die Bindung durch elektrostatische Kräfte oder durch Dispersionskräfte erfolgen: Eine Bindung durch elektrostatische Kräfte tritt bei polaren Adsorbentien auf, deren elektrisches Oberflächenfeld zu einer Polarisation des zu adsorbierenden Moleküles führt, wobei es sich um eine Orientierungspolarisation * und um eine Deformationspolarisation** handeln kann [13]. Bei unpolaren Adsorbentien und Adsorptiven

---

*durch Orientierung eines permanenten Dipols erzeugte elektrische Polarisati

**durch Deformation der Ladungen von polaren und unpolaren Molekülen erzeugte Polarisation

erfolgt die Bindung lediglich durch Dispersionskräfte,d.h.Anziehungskräfte,die durch das Fluktuieren der Ladungswolke über Resonanz zustande kommen.
Während die Chemisorption auf eine monomolekulare Adsorptionsschicht beschränkt bleiben muß, ist die Physisorption auch in mehrmolekularer Schicht möglich.
Weiterhin ist zu erwähnen, daß sich beim Adsorptionsvorgang auf einem bestimmten Niveau ein Gleichgewicht einstellt, wobei die Anzahl der in der Zeiteinheit desorbierten und adsorbierten Moleküle gleich ist.

b) Literaturübersicht

Es erscheint sinnvoll,die Arbeiten, die sich mit dem Problem der Adsorption beschäftigen, nach der Größe der Adsorptive einzuteilen, nämlich in solche, die sich mit der Adsorption von Kationen und kleineren Molekülen,in solche, die sich mit der Adsorption von größeren Molekülen und ferner in solche, die sich mit der Adsorption von lebenden Organismen,in diesem Falle Viren und Bakterien auseinandersetzen.
Über die Adsorption von Kationen und kleinen Molekülen an amorphes Siliciumdioxid liegen zahlreiche Veröffentlichungen vor.Bei der Betrachtung der Adsorption von größeren Molekülen,Viren und Bakterien werden wegen der geringen Anzahl von Arbeiten auch andere Adsorbentien miteinbezogen.

2.1. Adsorption von Kationen und kleineren Molekülen

Eine Anzahl von Publikationen über die Adsorption von Kationen und kleineren Molekülen an Siliciumdioxid in wässrigem Milieu ist bereits erschienen.Einen Überblick über einen Großteil der Veröffentlichungen vermitteln Übersichten von Rupprecht[14] sowie von Bannasch und Stamm [15].
Die Adsorption einiger dieser anorganischen und organischen Kationen ist im Hinblick auf eine mögliche Adsorptionstherapie bei Vergiftungen nach oraler Aufnahme entsprechender giftiger Salze von größtem Interesse.
In diesem Zusammenhang ist die Bindung von As^{3+},Sb^{3+},Zn^{2+},Hg^{2+},Pb^{2+},Cu^{2+}, K^{+} und Ba^{2+} [16-25] über Kationenaustausch sowie die Bindung verschiedener Alkaloide wie Chinin,Strychnin,Yohimbin,Codein,Papaverin,Narcotin und Morphin [26] von Bedeutung.
Schließlich sei auf die ausgeprägte Bindung von Methylenblau an Siliciumdioxid hingewiesen,wobei neben Ionenaustausch eine Wechselwirkung über

Wasserstoffbrücken und hydrophobe Bindungen diskutiert wird [27-30]. Dieser Farbstoff wird, wie bereits erwähnt, üblicherweise zur Prüfung des Adsorptionsvermögens von Adsorbentien herangezogen.

2.2. Adsorption von größeren Molekülen

Bei der eingehenden Untersuchung des Einflusses verschiedener Stäube auf Fermente, konnte Baumann [31] nachweisen, daß Hyaluronidase und zwei esterspaltende Fermente (Lipase und Esterase des Pankreas) in vitro an sehr feines Quarzpulver* (durchschnittliche Teilchengröße 1-3 µm) adsorbiert werden.

Eine ähnliche Beobachtung mit amorphem Siliciumdioxid als Adsorbens machten Stephan und Róka [32]. Sie erklärten die von ihnen gefundene rasche Beseitigung der β- Propiolacton- Hydrolyse im Serum bei Behandlung mit amorphem Siliciumdioxid durch die Adsorption des die Hydrolyse steuernden Fermentes, der β- Propiolacton- Hydrolase.

Die gleichen Autoren behandelten Sera mit einer amorphen kolloidalen Kieselsäure und erzielten aufgrund einer selektiven Adsorption der α_1-, α_2- und β- Lipoproteide eine Erhöhung der Stabilität der behandelten Seren.

Neben diesen physiologischen Serumlipoproteiden wird nach Siebke und Mitarb. [33] auch Australia-Antigen an amorphes Siliciumdioxid adsorbiert. So war in 10 von 12 Seren nach der Adsorption kein Antigen mehr nachweisbar.

Neben diesen Arbeiten, die auf eine grundsätzliche Adsorbierbarkeit von Eiweißkörpern an Siliciumdioxid hinweisen, seien noch Untersuchungen von Rupprecht und Mitarb. [34] erwähnt. Sie fanden bei der Untersuchung des Adsorptionsverhaltens von Steroiden an Kieselsäureoberflächen, daß Hydrocortison und Äthinylöstradiol kaum, das hochtoxische Digitoxin dagegen (bei einer Ausgangskonzentration von 1,42 mg/ml Wasser) zu 80 % adsorbiert wurde.

Der gleiche Autor [35] untersuchte das Adsorptionsvermögen von kolloidalen Kieselsäuren für Polyäthylenglykol und PÄG-Derivate mit dem Ergebnis, daß die grenzflächenaktiven Derivate in viel größerem Ausmaß gebunden wurden als Polyäthylenglykole.

---

* Quarz ist im Gegensatz zu den hier untersuchten Kieselsäuren kristallines Siliciumdioxid.

2.3. Adsorption von Viren

Die Adsorption von 13 verschiedenen Enterovirus- Typen an Glas* wird von Henigst [36] beschrieben. Er konnte feststellen, daß sich alle getesteten Enterovirus- Typen in ihrer Tendenz, sich an Glas zu binden, weitgehend gleichsinnig verhalten. Die Viren wurden je nach Typ und Glassorte zu 77 % - 96 % gebunden.
Auch Mattern [37], der den Polio- Virus- Stamm MEF verwendete, stellte eine starke Adsorption an Glas fest.

Mit der Bindung eines Virus an amorphe, kolloidale Kieselsäure speziell befaßten sich Stephan und May [38]. Die Autoren konnten Coli- Phagen aus physiologischer Kochsalzlösung (Titer 10^6/ml) durch Rühren mit 2 % Siliciumdioxid vollständig adsorbieren.

Valentine und Allison [39] errechneten bei Adsorptionsstudien mit Hühnerpest- und Vaccinia- Viren, daß die Zahl der gebundenen Viren an nichtbiologische Oberflächen nahezu übereinstimmt mit der durch die Brownsche Bewegung verursachte Zahl der Kollisionen.

2.4. Adsorption von Bakterien

Wie die Adsorption von Viren, so hat auch die Adsorption von Bakterien, trotz ihrer unbestreitbaren klinischen Bedeutung, bisher in der Literatur einen viel geringeren Niederschlag gefunden als die Adsorption von chemischen Verbindungen.

Schon 1889 fand Krüger [40], daß fein verteilte, chemisch indifferente Substanzen, in Wasser gebracht, einen großen Teil der darin enthaltenen Bakterien mit zu Boden reißen. Die Wirkung erschien ihm um so größer, je langsamer das Niedersinken erfolgte und je mehr Material eingebracht wurde. Für Kieselgur speziell beobachtete er bei Zusatz von 2,0 g/Liter nach 20 Std. eine erhebliche Verminderung von Bakterienzellen in den oberen und mittleren Schichten.

Zu Beginn des Jahrhunderts sind neben therapeutischen Versuchen mit Kohle, Kaolin und anderen Adsorbentien [41-44] Bestrebungen zu erwähnen, eine Bakterienadsorption der bakteriologischen Technik dienstbar zu machen. Es sind hier die Untersuchungen von Kuhn [45], Kuhn und Heck [46],

---

* Glas dient als Beispiel für eine anorganische Oberfläche mangels Arbeiten, die sich mit der Adsorption von Viren an amorphes SiO_2 beschäftigen.

Salus [47] und Michaelis [48] zu nennen, die vor allem die selektive Adsorption von Typhusbakterien an verschiedene Adsorbentien für die Ausarbeitung praktischer Isolierungsmethoden herangezogen haben.

Eine umfangreiche Untersuchung mit Bakterienaufschwemmungen machte Eisenberg [49]. Er fand 5o verschiedene anorganische und organische wasserunlösliche Substanzen zur Adsorption von Bakterien befähigt, wobei die beobachteten Differenzen nur durch die Oberflächenentfaltung, nicht aber durch die chemische Natur des Adsorbens bedingt zu sein schienen.

Besonders wichtig ist der Befund, daß tote und lebende Zellen ein ähnliches Adsorptionsverhalten zeigen, daß folglich die Lebenstätigkeit der Bakterien in der Regel bei der Adsorption keine Rolle spielt. Dies wurde erstmalig von Chudiakow [5o] beschrieben (1926) und später von Müller und Hickisch [51] (197o) bestätigt.

Letztere Autoren prüften anhand von 13 Bodenbakterienstämmen, die sich möglichst stark in ihren morphologischen und physiologischen Eigenschaften unterschieden, den Einfluß der Zellgröße, der Schleimbildung, der Gram-Reaktion, der Beweglichkeit der Zellen, des Alters der Kulturen sowie der Anwesenheit artfremder Bakterien in der Suspension auf die Anlagerungsneigung der Zellen an verschiedene Adsorbentien (sekundäre Tonminerale, Löß und Ionenaustauscher auf Kunstharzbasis).
Sie fanden eine Abnahme der Adsorption mit ansteigender Zellgröße, eine verringerte Adsorption bei Bakterienarten mit ausgeprägtem Schleimbildungsvermögen, eine geringfügige Adsorptionsminderung durch Alterung der Kulturen und eine Zunahme der Adsorption mit der Zunahme der Beweglichkeit der Zelle.
Ein Einfluß der Gram- Reaktion konnte von diesen Autoren nicht bestätigt werden, während Eisenberg [49] eine stärkere Adsorption der grampositiven Arten beschrieben hat.

Zu betonen ist, daß nach Müller und Hickisch [51] die Art des Bakteriums für die Beurteilung der Qualität eines Adsorbens keine allzu große Rolle spielt, da das Maß der Aktivität des Adsorbens für jede einzelne Bakterienart gilt.
Zum Abschluß sei noch auf eine Arbeit von Kienholz [52] hingewiesen, der ein Absterben gramnegativer Bakterien (Escherichia coli, Bakterium proteus, Pseudomonas aeruginosa, Aerobacter aerogenes) in einer kolloidalen

Kieselsäure beschreibt.Dieses Ergebnis ist für die vorliegende Arbeit jedoch nicht ohne weiteres verwertbar, da mit einem sehr geringen Flüssigkeitsvolumen gearbeitet wurde,d.h. o,15 ml Bakteriensuspension wurde der andersartigen Fragestellung entsprechend mit trockener Kieselsäure zur Reaktion gebracht.

Aus dieser Übersicht ergibt sich, daß die Adsorptionsphänomene an kolloidalem Siliciumdioxid bisher nur in bezug auf kleinere Moleküle und Kationen ausführlich untersucht wurde.
Der Adsorption größerer Moleküle an Siliciumdioxid wurde nur vereinzelt Aufmerksamkeit zugewandt, und die Adsorption größerer lebender Partikel (Bakterien,Viren) an Siliciumdioxid fand bisher eigenartigerweise kaum Beachtung.
Mit zunehmender Größe des Adsorptivs nimmt die Zahl der Untersuchungen vermutlich wegen der größeren experimentellen Schwierigkeiten stark ab.
Bei der therapeutischen Verwendung von Adsorbentien ist jedoch gerade die Bindung von Makromolekülen(Eiweißen,Toxinen)bzw. Partikeln mikroskopischer Größenordnung (Bakterien,Viren) das entscheidende Kriterium.
Wir stehen also noch am Anfang eines bisher kaum bearbeiteten Forschungsgebietes, nämlich der Bindung größerer Moleküle und Partikel an geeignete Adsorbentien.Demzufolge werden auch in dieser Arbeit noch viele Fragen offen bleiben müssen.

3. MATERIAL und METHODEN

3.1. MATERIAL

Bei den zur Klärung der dem Siliciumdioxid zugrundeliegenden Bindungs- und Wirkungsmechanismen erforderlichen Adsorptions- und Desorptionsmessungen wird den Größenverhältnissen der Adsorptive einerseits und den Dimensionen des Hohlraumsystems der Adsorbentien andererseits ganz besondere Aufmerksamkeit geschenkt.

Als Adsorbentien werden daher Kieselsäuren verschiedener Herkunft und unterschiedlicher Hohlraumstruktur sowie Aktivkohle und ein Kohlegranulat herangezogen.
Zur Abklärung des morphologischen Feinbaus der Adsorbentien wird eine vergleichende elektronenmikroskopische Strukturanalyse vorgenommen.

Als Adsorptivmodelle verschiedener Größenordnung werden Methylenblau, Hämoglobin, Staphylokokken- Enterotoxin C_1 sowie das Bakterium Escherichia coli Stamm 311o untersucht.
Toxine stehen leider nur in sehr geringen, zur Messung von Adsorptionsisothermen nicht ausreichenden Mengen(wenige /ug) zur Verfügung.
In vielen Versuchen wird daher Hämoglobin als Modellsubstanz für die Adsorption größerdimensionierter Moleküle bevorzugt. Sein Molekulargewicht liegt mit 68ooo in der Größenordnung bekannter Toxine (Staphylokokken-Enterotoxin MG:29ooo , Cholera- Enterotoxin MG:9oooo).

3.1.1. Eigenschaften der untersuchten Adsorbentien

In der vorliegenden Arbeit werden folgende Adsorbentien verwendet:
7 verschiedene poröse Kieselsäuren
2 verschiedene unporöse Kieselsäuren
3 verschiedene Aktivkohlen (vgl. Tab. 22,23)

3.1.1.1.Siliciumdioxid

3.1.1.1.1 Physikalisch-chemische Eigenschaften

Die verwendeten amorphen Siliciumdioxid- Typen (vgl. Tab. 22) sind lockere, pulvrige Feststoffe von weißer Farbe, die sich gut in Wasser suspendieren lassen und in fester Form (Tabletten) oder Suspension des Pulvers oral, auch hochdosiert, verabreicht werden können.*
Der pH- Wert dieser Substanz liegt in der Nähe des Neutralpunktes (vgl. Tabelle 2o).
Es handelt sich bei diesem Feststoff um Polykieselsäuren.
Monomere Kieselsäure ist instabil und polymerisiert in wässriger Lösung immer, wenn ihre Konzentration wenige hundertstel Prozent überschreitet zu Polykieselsäure, d.h. also zu Makromolekülen.
Umgekehrt geht aus wässrigen Polykieselsäuresuspensionen monomere Kieselsäure geringfügig in Lösung.
Dieses Hydratations- Dehydratations- Gleichgewicht kann nach Iler [53] durch folgende Gleichung beschrieben werden:

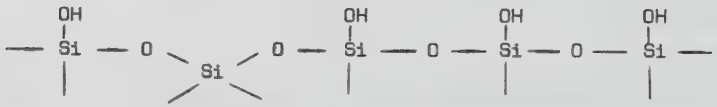
$$(SiO_2)_x + 2\,H_2O \underset{}{\overset{OH^-}{\rightleftharpoons}} Si(OH)_4 + (SiO_2)_{x-1}$$

Dabei bleibt die Sättigungskonzentration von $Si(OH)_4$ bei konstantem pH konstant. In dem hier interessierenden pH- Bereich von 3 bis 9 löst sich amorphes Siliciumdioxid zu etwa o,ol % (= loo ppm) in Wasser.
Die Oberfläche der Polykieselsäurepartikel besteht aus Siloxangruppen ($\gtrless$ Si- O- Si $\lessgtr$) und Silanolgruppen ($\gtrless$ Si- OH), das Innere der Partikel aus Silicium- und Sauerstoffatomen.
Die Silanolgruppendichte ist bei den pyrogenen Kieselsäuren niedriger als bei den gefällten. Bei dem verwendeten pyrogenen Kieselsäuretyp K_8 liegt

---

* Entero- Teknosal (Fa. Taco)

die Silanolgruppendichte bei 3 -Si-OH/loo Å ^{2}, bei gefällten Kieselsäuren (entsprechend den Typen K_1 bis K_7) etwa bei 5-6 -Si-OH/loo Å ^{2}.



Oberfläche der Polykieselsäurepartikel

Handelsübliche Kieselsäuren haben einen isoelektrischen Punkt um pH 3.5 und tragen oberhalb pH 3.5 eine negative Ladung. Diese nimmt mit steigendem pH aufgrund der Zunahme der Hydroxylionadsorption und der Dissoziation der Silanolgruppe zu.

Bei der Herstellung der Kieselsäuren erfolgt der Aufbau der festen Kolloidteilchen entweder in der Gasphase oder in Lösung.

a) Aufbau der festen Kolloidteilchen in der Gasphase:

Die sogenannten pyrogenen* Kieselsäuren (Tab. 22 K_8, K_9) werden großtechnisch durch Verbrennen von Siliciumtetrachlorid ($SiCl_4$) mit Wasserstoff hergestellt [54]. Dabei kondensiert Siliciumdioxid auf einer kalten Oberfläche zu einem sehr voluminösen Pulver.

b) Aufbau der festen Kolloidteilchen in Lösung:

Bereits 1862 wurde von Thomas Graham [55] ein Naßverfahren durch Eintropfen von Wasserglaslösung in Salzsäure unter Rühren und anschließender

---

*Der Begriff "pyrogen" bezeichnet nur das Herstellungsverfahren und soll mit "pyrogen" im Sinne von "fiebererzeugend" nicht verwechselt werden.

dialytischer Entfernung des Natriumchlorids und der überschüssigen Salzsäure entwickelt. Heute werden zahlreiche Verfahren mit Natriumsilikat [56-58] oder anderen hydrolysierbaren Substanzen wie Aethylsilikat [59] und Tetraäthoxysilan $Si(OC_2H_5)_4$ [60] als Ausgangssubstanzen angewandt.
Die entstehenden Produkte werden als "gefällte" Kieselsäuren bezeichnet.
Die Entfernung der Elektrolyte erfolgt heute z.B. nach Mindick und Reven [61] über Ionenaustauscherharze.

Während die pyrogenen Kieselsäuren schon als Xerogele (Trockengele) anfallen, werden bei den gefällten Kieselsäuren diese erst durch schonendes Trocknen der Sole z.B. aus Alkohol oberhalb des kritischen Punktes gewonnen.
Diese Xerogele zeichnen sich durch eine starke Oberflächenentwicklung aus. Die spezifischen Oberflächen können sich zwischen 50 und 1000 m^2/g bewegen.
Sie sind im Gegensatz zu den später beschriebenen Kohlen hydrophil und leicht benetzbar.
Der Gesamtwassergehalt("total water") der als Xerogel vorliegenden Kieselsäuren setzt sich aus physisorbiertem, sog. "free water", und chemisch gebundenem, sog. "bound water", zusammen(vgl.Tab.21).

Die Silanolgruppen an der Oberfläche der Polykieselsäuren sind zu zahlreichen Reaktionen mit anorganischen und organischen Substanzen sowohl in der Gasphase als auch in polaren und unpolaren Flüssigkeiten befähigt.
In wässrigem Milieu sind chemische Umsetzungen an der Oberfläche, Ionenaustauschvorgänge und Wasserstoffbrückenbildungen möglich.
Bei chemischen Umsetzungen kann die gesamte Silanolgruppe reagieren(z.B. Umsetzung mit Thionylchlorid) oder es kommt nur zu einem Austausch des Wasserstoffes der Silanolgruppe(z.B. Umsetzung mit Alkoholen)[62].
Darüber hinaus ist Siliciumdioxid als Kationenaustauscher zum Austausch von Protonen der Silanolgruppe mit organischen Kationen(z.B.Alkaloiden) und zahlreichen anorganischen Kationen (vgl. Kapitel 2.1.) befähigt, wobei das Ausmaß des Kationenaustausches pH-abhängig ist.
Als Ursache für die Bindung von Proteinen werden neben Wasserstoffbrücken auch Dipoleffekte diskutiert [62].

3.1.1.1.2.Toxikologische Eigenschaften

Bei der vorliegenden Fragestellung interessieren nur die toxikologischen Eigenschaften des Siliciumdioxids bei peroraler Applikation.
Eine Studie der WHO(Weltgesundheitsorganisation) [63] schließt aus den verfügbaren toxikologischen Daten und aus den vorliegenden klinischen Erfahrungen, daß kolloidale,amorphe Kieselsäure oral verabreicht atoxisch ist.

Hier sei nur kurz auf einige derartige Untersuchungen hingewiesen:
Über einen Zeitraum von 6 Monaten wurde ein chronischer Fütterungsversuch an Ratten [64] mit der hier als K_1(Tab. 22) bezeichneten , gefällten Kieselsäure in extrem hoher Dosierung(3,2% bzw. 1o% Kieselsäure - Beimischung zur Standarddiät) durchgeführt.
Bei allen Untersuchungsbefunden wie Allgemeinzustand, Verhalten der Tiere, zahlreichen hämatologischen und klinisch-chemischen Daten des Blutes, des Serums und des Harns und ebenfalls bei den histologischen Untersuchungen konnte ein toxischer Effekt nicht nachgewiesen werden.
Ähnliche Fütterungsversuche an Ratten werden in der Studie der WHO beschrieben [63].
Auch pyrogene Kieselsäuren (entsprechend den in Tabelle 22 aufgeführten Typen K_8 und K_9) gelten seit langem bei oraler Applikation als unschädlich [65-67].

Zur Bestimmung der LD-5o, d.h. der Dosis , welche den Tod von 5o% der Tiere bewirkt, wurde Ratten per Schlundsonde die technisch maximal mögliche Dosis von 5,62 g/kg der Kieselsäure K_1 verabreicht.Da bei dieser Dosis weder toxische Symptome noch Tod von Versuchstieren eintrat, muß die LD-5o der Kieselsäure K_1 höher als 5,62 g/kg liegen.
Zu ähnlicher Ergebnissen kam Leuschner [68], der für eine andere gefällte, amorphe , hochdisperse Kieselsäure eine Toxizitätsschwelle ermittelte, die bei Applikation per Magensonde oberhalb von 8g/kg(bei Mäusen), bei Applikation durch Futterbeimischung oberhalb 3g/kg(bei Ratten)lag.

Auch von menschlichen Versuchspersonen wurde eine tägliche, perorale Einnahme von 6o-loo g einer pyrogenen Kieselsäure(entsprechend K_8 und K_9,vgl. Tab. 22) über drei bis vier Wochen ohne irgendwelche Schäden vertragen[69].
Es sei hier darauf hingewiesen, daß Kieselsäuren ein normaler Nahrungsbestandteil sind,ohne eine physiologische Rolle zu spielen. So enthalten Kartoffeln lo.1, Milch 2.1, Trinkwasser 7.1, Mineralwasser 22.5 und Bier sogar 131.o /ug SiO_2/g oder cm^3 7o).

Eine Resorption der Polykieselsäure- Makroteilchen ist aufgrund von Tierversuchen[71-72]auszuschliessen. Nur die in geringen Mengen durch Hydrolyse gebildete monomere Orthokieselsäure $Si(OH)_4$ wird resorbiert und schnell ausgeschieden. Letztere gilt jedoch als nicht oder nur wenig toxisch [73].

3.1.1.2. Aktivkohlen

Aktivkohlen sind lockere, pulverige Feststoffe von schwarzer Farbe, die einen hohen Kohlenstoffgehalt(8o-95%) aufweisen [74].
Reine Aktivkohleoberflächen werden als nicht polar und hydrophob angesehen. In der Praxis jedoch können in der Oberfläche befindliche Hydroxyl- ,Carbonyl- oder Carboxylgruppen die Oberfläche in geringem Umfang polarisieren.
Aktivkohlen besitzen wie Siliciumdioxid ein ausgeprägtes Hohlraumsystem. Bezüglich der Größe der Poren kann hier ein Mikroporen- und ein Makroporensystem unterschieden werden, wobei die Mikroporen jedoch den weitaus größten Beitrag zur inneren Oberfläche liefern.Die Mikroporen haben definitionsgemäß einen Durchmesser zwischen lo und looo Å, die Makroporen einen Durchmesser zwischen looo Å und loo ooo Å.
Die nach BET ermittelte Oberfläche kann bei Vorliegen sehr feiner Mikroporen enorme Ausmaße annehmen, wie bei der Probe AK_1(vgl.Tab. 22),die eine spezifische BET-Oberfläche von 2loo m^2/g aufweist.
Zur Herstellung von Aktivkohlen werden Braun-,Holz- und Steinkohle sowie Petrolkoks herangezogen. Die Rohstoffe werden bei ca. 6oo - 8oo °C verkokt und anschließend aktiviert, d.h. die Pyrolyseprodukte werden bei

ca. 400°C durch Oxydation mit Sauerstoff oder bei 800-1000°C mit Wasserdampf entfernt.

Während die Makroporen, die als Zufuhrkanäle zum Innern der Kohlepartikel fungieren, von den verwendeten Rohstoffen und von der ersten Stufe des Fabrikationsverfahrens abhängig sind, ist das Mikroporensystem größtenteils das Resultat des Aktivierungsverfahrens.

Die Aktivkohlen werden therapeutisch bei Vergiftungen, Gastroenteritis und Meteorismus verwendet.

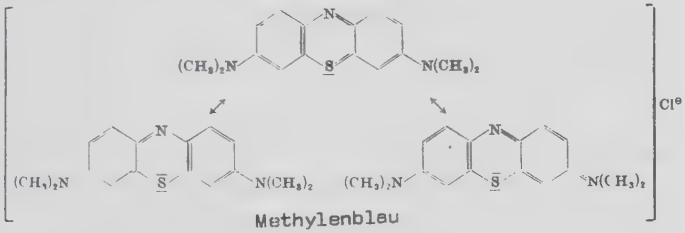
Das Adsorptionsvermögen der medizinischen Kohlen wird in den Arzneibüchern der verschiedenen Länder mit Methylenblau(MG 319.9), Phenazon(MG 188.2), Sublimat(MG 271.5), Phenol(MG 94.11), Strychninsulfat(MG 522.37),Chininhydrochlorid(MG 396.9),Natriumsalicylat(MG 160.1) oder Bromphenolblau(MG 670.0) geprüft[75].

Die Molekulargewichte(MG) der genannten Prüfadsorptive liegen zwischen 94 und 670, d.h. es werden bis heute in den Arzneibüchern nur relativ kleine Moleküle als Kriterium für die Qualität eines Adsorbens herangezogen.

3.1.2.Eigenschaften der untersuchten Adsorptive

3.1.2.1.Methylenblau

Die Kristalle dieses Phenothiazinfarbstoffes lösen sich in Wasser mit intensiv blauer Farbe. Sein Molekulargewicht beträgt 319,9.
Das Kation weist folgende Mesomerie auf:



Methylenblau

Nach eigenen Berechnungen (3-Ding-Modell) hat das Molekül folgende Größe:
Länge: 24 Å*
Breite: 12 Å
Höhe : 5-9 Å (je nach Stellung der Methylgruppen)

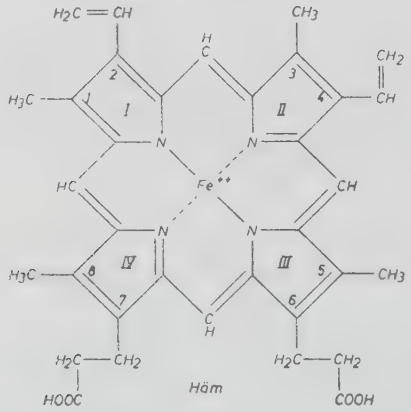
Wenn man annimmt, daß Methylenblau als Ellipsoid um die Längsachse rotiert, so würde bei Adsorptionsvorgängen theoretisch ein Mindestporendurchmesser des Adsorbens von 12 Å erforderlich sein, wenn auch die innere Oberfläche des Adsorbens mit Methylenblau belegt werden soll.
Juhola [76] errechnete aufgrund seiner Experimente einen erforderlichen Mindestporendurchmesser von 15 Å.

---

* 1 Å = 10^{-10} m = 0,1 nm

3.1.2.2.Hämoglobin und Hämiglobin

Hämoglobin(HB),der Blutfarbstoff der Wirbeltiere ist die Verbindung eines Proteins, des Globins,mit dem eisenhaltigen Häm [77].
Das Hämoglobinmolekül besteht aus vier aggregierten Peptidketten, von denen je zwei einander gleich sind(zwei α - und zwei β -Ketten).Jede Kette enthält eine Hämgruppe.
Beim menschlichen Hämoglobin besteht die α -Kette aus 141, die β -Kette aus 146 Aminosäuren.
Das Molekulargewicht des menschlichen HB wird mit 67ooo [78] angegeben.



Während im Hämoglobinkomplex zweiwertiges Eisen vorliegt,ist im Hämiglobin(Methämoglobin) das Eisen zur dreiwertigen Stufe oxydiert.
Das Hämoglobinmolekül hat nahezu kugelförmige Gestalt und hat folgende Größe [79]:

Länge 64 Å *
Breite 55 Å
Höhe 5o Å

Das darin eingelagerte Häm hat einen Durchmesser von ca. 12 Å.
Im Vergleich dazu hat das in den Versuchen verwendete Lösungsmittel Wasser einen Moleküldurchmesser von nur ca. 4 Å.

* 1 Å(Ångström) = $1o^{-1o}$m = o,1 nm(Nanometer)

Das in den Versuchen verwendete, von zwei verschiedenen Herstellern als Rinderhämoglobin deklarierte Produkt konnte nach einigen Schwierigkeiten als Hämiglobin(Methämoglobin) identifiziert werden(vgl.Identitätsprüfung S. 46).Daß das in den Handel kommende Produkt bereits oxydiert * ist, kann damit erklärt werden, daß die Aktivität der Reduktasen, welche die Reduktion von gebildetem Methämoglobin katalysieren, mit zunehmendem Leichenalter [77] abnimmt und ihre Wirksamkeit vom Intaktsein der Erythrozyten abhängig ist.
Das Vorliegen anderer Hämoglobin-Derivate bzw. Abbauprodukte konnte ausgeschlossen werden.

Zu den Eigenschaften des Hämiglobin(Methämoglobin) ist zu sagen, daß es sich zwischen pH 5 und pH lo wie ein Indikator verhält. Darüber und darunter wird es denaturiert und geht in Hämatin(=prosthetische Gruppe des MetHb) über.Das Hämiglobin ist im sauren Bereich braun, im alkalischen rot-braun.Entsprechend der Farbänderung wechselt auch die Absorptionskurve bei pH-Änderung. Die Sorêtbande des Met-Hb liegt nach Schwerd [77] im Sauren bei 4o5 nm(pH 6,8), im Alkalischen bei 41o nm(pH 9). Bei dem hier verwendeten Hämiglobin lag das Absorptionsmaximum bei 4o8nm(pH 7).

Obwohl in den Versuchen Hämiglobin als Adsorptiv verwendet wurde, wird im folgenden der Einfachheithalber von Hämoglobin(Hb)gesprochen. Es wird darauf hingewiesen, daß die reduzierte Form, das Hämoglobin,vermutlich leicht veränderte Adsorptionsisothermen ergäbe.

In der vorliegenden Arbeit wurde von einer ursprünglich vorgesehenen Reduktion des Hämiglobins zu Hämoglobin durch Zusatz von Ascorbinsäure wegen folgender Schwierigkeiten abgesehen:
1) Die Umsetzung dauerte einige Stunden,bis schließlich die Extinktion konstant wurde.

---

* Es muß unterschieden werden zwischen Oxydation und Oxygenierung des Hämoglobins.Bei der Oxygenierung(reversible Sauerstoffaufnahme) bleibt das Eisen des Hämoglobins zweiwertig, während es bei der Oxydation dreiwertig wird(Hämiglobin) und nicht mehr für den Sauerstofftransport geeignet ist.

2) Die nach der beendeten Umsetzung geprüfte wässrige Lösung zeigte ein extrem breites Absorptionsmaximum (α max 378–390 nm), evtl. hervorgerufen durch Überlagerung zweier Maxima.

3)Ausserdem konnte nicht ausgeschlossen werden, daß es zu einer Abspaltung des Globins (Hämatinbildung) kommt.

4) Weiterhin war zu befürchten, daß die überschüssige Ascorbinsäure bzw. Dehydroascorbinsäure beim Adsorptionsvorgang mit dem Hb in Konkurrenz treten würde.

Ein weiterer Grund, dem unbehandelten Handelsprodukt den Vorzug zu geben, war, daß lediglich die Molekülgrösse als entscheidendes Kriterium gelten sollte und die Ergebnisse gut reproduzierbar sein sollten.

3.1.2.3.Staphylokokken- Enterotoxin C_1

Das für die Nahrungsmittelvergiftung(Staphylokokken-Gastroenteritis) verantwortliche, von verschiedenen Staphylokokkenstämmen gebildete Enterotoxin ist ein Protein, bestehend aus einer einzigen Polypeptidkette mit einem Molekulargewicht von 29ooo ± 5oo und einem Absorptionsmaximum bei 277 nm.

Heute sind verschiedene Staphylokokken- Enterotoxine bekannt, die man mit A,B,C,D und E bezeichnet.

Diese in wässrigen Salzlösungen gut löslichen Proteine werden weder durch Hitze(3o Minuten langes Kochen) noch durch proteolytische Enzyme des Darmtraktes inaktiviert.

Bei oraler Verabreichung reichen beim Affen schon 5 /ug(o,9 /ug pro kg Körpergewicht), bei intravenöser Applikation sogar schon o,5 /ug Enterotoxin E aus, um innerhalb von 5 Stunden Erbrechen und Durchfall zu erzeugen.

Die kleinste Menge, die beim Menschen diese Symptome auslöste, war weniger als 1 /ug Enterotoxin A [8o].

In der vorliegenden Arbeit wurde Enterotoxin C_1* benutzt.

---

* Hersteller: Fa. Serva ,Heidelberg, Karl Benzstr.

3.1.2.4. Escherichia coli

Escherichia coli sind kurze, gramnegative, meist bewegliche, nicht sporenbildende Stäbchenbakterien aus der Familie der Enterobacteriaceae [8o]. Obwohl normalerweise Escherchia coli als Teil der intestinalen Flora von Mensch und Tier keine Krankheiten verursachen soll, sind gewisse enteropathogene E. coli-Stämme für die Entstehung von Durchfallerkrankungen verantwortlich(vgl.Kapitel 1.1.).

In der vorliegenden Arbeit wurde der Stamm W 3110 verwendet.

3.2. METHODEN

3.2.1. Methoden zur Charakterisierung der Adsorbentien

3.2.1.1. Elektronenmikroskopische Untersuchungsmethoden

Es wurde ein Transmissions-Elektronenmikroskop (Philips Typ EM 3oo)mit einem Punktauflösungsvermögen von etwa 5 Å benutzt.

Eine TEM-Abbildung entsteht durch Wechselwirkung zwischen Elektronenstrahlen und einem Objekt. Durch elastische Streuprozesse an den Atomkernen und unelastische Streuung an den Elektronenhüllen des Objektes werden Richtungsänderungen der Elektronen hervorgerufen, die eine andere Intensitätsverteilung der Elektronen im Endbild bedingen.Ein Bildkontrast wird dadurch hervorgerufen, daß die in der Brennebene des Objektivs befindliche Aperturblende alle Elektronen zurückhält, welche in einem größeren Winkel als dem Aperturwinkel α gestreut werden.Zusätzlich hängt der Kontrast von der Beschleunigungsspannung U_o , der Massendicke $x = \varrho \cdot D$ (ϱ= Dichte D = Schichtdicke) und von der chemischen Zusammensetzung des Objektes ab. Der Bildkontrast wird bei konstanter Apertur α und Strahlspannung U_o proportional zur Massendicke

$$K = c \cdot \varrho \cdot D$$

K = Kontrast c = Proportionalitätsfaktor ϱ = Dichte D=Schichtdicke
Bei vorliegenden amorphen Schichten mit einheitlicher Dicke hat dieses Gesetz volle Gültigkeit.
Schichten bis zu Kontrasten von 1,5 und Massendicken bis etwa 4o-6o $/ug.cm^{-2}$ ergeben bei kleinen Aperturen scharfe Bilder [82].

Gegenüber dem Lichtmikroskop gestattet das Transmissions-Elektronenmikroskop(TEM) ein wesentlich höheres Auflösungsvermögen(o.ooo5 /um entsprechend o.5 nm bzw. 5 Å beim TEM gegenüber o.5 /um,entsprechend 5oo nm bzw. 5ooo Å beim Lichtmikroskop. [82], da die Wellenlänge der Elektronenstrahlen bei den üblichen Beschleunigungsspannungen von 4o bis loo KV um etwa einen Faktor lo^4 kleiner als die Wellenlänge des sichtbaren Lichtes ist.

Für die elektronenmikroskopische Untersuchung am TEM muß folgendes beachtet werden:

1) Es muß im Hochvakuum gearbeitet werden.
2) Es kann bei hoher Elektronenstromdichte eine u.U. störende Objekterwärmung und Strahlenschädigung z.B. durch Ionisationsprozesse auftreten.
3) Das Präparat muß durchstrahlbar sein, d.h. für die vorliegenden Adsorbensproben darf die durchstrahlte Schichtdicke des Präparates nicht mehr als etwa 500 Å betragen.

Die Anwendung eines Raster-Elektronenmikroskopes(SEM) ist im vorliegenden Fall wegen der kleinen Partikelgröße weniger sinnvoll, da sein Auflösungsvermögen bestenfalls bei 200 Å liegt.

Es wurden über 100 Aufnahmen in verschiedenen Vergrößerungen(1914ofach bis 3 190 000fach) angefertigt.Die später gezeigten stellen nur eine kleine,aber typische Auswahl (Vergrößerung 400 000fach) dar.*

3.2.1.1.1. Objektträger

Als Objektträger wurden Kupfer-Trägernetze benutzt mit quadratischen Maschen von 0,1 mm.Die Objektträger wurden mit einem dünnen Trägerfilm überzogen.Als Träger dienten reine Kollodiumfilme nach Reimer [82], Kollodiumfilme mit aufgedampfter Kohleschicht und daneben reine Kohlefilme.
Die Kohlefilme wurden in einer üblichen Hochvakuum-Bedampfungsanlage durch Kohleverdampfung(Methode nach Bradley [82])hergestellt.

---

* Ich danke Herrn Dr. A. Maas herzlich für die Betreuung der elektronenmikroskopischen Untersuchungen.

3.2.1.1.2. Präparation der Siliciumdioxidpräparate

Eine 1%ige Suspension des Pulvers in Aqua destillata bzw. in Petroläther (K_8,K_9) wurde je nach Sorte 1-5 Minuten bei 3loo U/Min. zentrifugiert, um zu grobe Aggregate zu entfernen. Der Überstand wurde zur Transmissions-Elektronenmikroskopie verwendet.Dadurch konnten ausreichend dünne Schichten erhalten werden, ohne daß eine Zerkleinerung mit den dabei eintretenden Strukturveränderungen erforderlich wurde.
Der Aufbau der nach dem Zentrifugieren im Überstand verbliebenen aggregierten Partikel war auch für die morphologische Struktur der im Sediment verbliebenen Aggregate repräsentativ, was durch Kontrollen nachgeprüft wurde.Unzentrifugierte und leicht zentrifugierte Proben unterschieden sich nur durch die Grösse der Aggregate der Kolloidteilchen, wie in elektronenmikroskopischen Untersuchungen von Deželič und Mitarb. [83] bestätigt wird.

3.2.1.1.3. Präparation der Aktivkohlepräparate

Eine 1%ige Suspension der Aktivkohlen wurde stehengelassen , bis die grösseren Aggregate sedimentiert waren,und der Überstand in gleicher Weise wie bei den Siliciumdioxidproben zur Elektronenmikroskopie verwendet.

3.2.1.1.4. Aufbringen des Objektes auf den Objektträger

Es wurde jeweils ein sehr kleiner Tropfen des Überstandes mit einer ausgezogenen Pipette auf den Objektträger gebracht und der größte Teil des Tropfens mit saugfähigem Papier wieder entfernt. Der eingetrocknete Rest der Aufschwemmung stellte das abzubildende Objekt dar.

3.2.1.1.5. Auswahl der Strukturbereiche

Im Hinblick auf die zusätzliche kontrastmindernde Elektronenstreuung in den Trägerfolien erwies es sich als vorteilhaft,Objektpartikel zu untersuchen, die in Löcher der Trägerfolie hineinragten.

3.2.1.1.6. Objekterwärmung und Strahlenschädigung

Wegen der Feinteiligkeit der Adsorbens-Proben sind starke Vergrösserungen für die elektronenmikroskopische Abbildung erforderlich. Bei der für diese Vergrösserungen notwendigen Strahlungsintensität kann die Erwärmung des Präparates und die Strahlenschädigung beträchtlich werden.Bei zu langer Bestrahlung der SiO_2-Proben traten Strukturveränderungen auf, die sich in einer Vergröberung der Aggregate und Kontrastierung der Teilchen bemerkbar machten. Im Falle der vorliegenden wasserhaltigen Kieselsäureproben konnte eine mehr oder weniger starke Dehydratation eintreten, die mit einer Zunahme der Massendichte verbunden war.Es war deshalb notwendig , möglichst geringe Strahlintensitäten zu verwenden und die elektronenmikroskopische Untersuchung in sehr kurzen Beobachtungszeiten abzuschliessen.Dadurch gelang es, Strukturveränderungen,z.B. durch Wasseraustritt,weitgehend zu vermeiden. Bei den Kohleproben trat dieses Problem nicht auf.

3.2.1.2. Bestimmung der spezifischen Oberflächen der Adsorbentien

Die Oberflächenbestimmungen erfolgten, sofern die spezifischen Oberflächen nicht bekannt waren, mit Hilfe von Inertgasadsorption nach der Methode von Haul und Dümbgen [84,85], eines auf der Basis der BET-Methode beruhenden Messverfahrens [86,87].
Die Messung erfolgt nach folgendem Prinzip:
Ein Adsorptions- und ein Vergleichsgefäß gleichen Volumens(hier 1o3,4 cm^3) sind über ein Differentialmanometer*12 verbunden. Die Adsorption von Stickstoff bei der Temperatur des flüssigen Stickstoffs(77,6°K) an der Adsorbensprobe bewirkt eine Druckdifferenz. Aus der Druckdifferenz, dem Einfülldruck(Atmosphärendruck), der Raumtemperatur und der Substanzmenge wurden die spezifischen Oberflächen nach der von Haul und Dümbgen abgeleiteten Gleichung errechnet(vgl. Tabelle 22).

---

*1 Manometerflüssigkeit: Phthalsäuredibutylester

*2 Ich danke Herrn Professor Dr.- Ing.L.v.Erichsen für die Bereitstellung der Apparatur.

Speziell ergab sich folgende Meßproblematik:

1) Der hygroskopische Charakter der bei 115°C vorgetrockneten Kieselsäuren erschwerte die genaue Einwaage.

2) Vor dem eigentlichen Meßprozeß wurden die thermolabilen Proben vorteilhaft zur Entfernung von Fremdgasmolekülen 1 Std. bei 2oo°C wechselweise unter Vakuum ausgeheizt und mit Stickstoff gespült.

3) Die leicht fliegenden Kieselsäurepartikel erforderten eine spezielle Technik beim Evakuieren. Die Probe wurde in das Gefäß gegeben, welches nicht direkt an die Vakuumölpumpe angeschlossen war,und dann indirekt evakuiert, d.h. zuerst wurde das Vergleichsgefäß evakuiert , der Hahn zur Pumpe verschlossen und dann jeweils langsam die Verbindung zwischen Vergleichsgefäß und Adsorptionsgefäß hergestellt.

4) Die Größe der Einwaage verlangt eine gewisse Erfahrung. Sie lag bei den Kieselsäuren bei ca. o,o5 g - o,2 g, bei den Kohlen bei o,oo9-o,2g.

5) Bei der sehr engporigen Aktivkohle AK_1 war die Druckdifferenz , die einer monomolekularen N_2 - Adsorptionsschicht entspricht,schwer bestimmbar. Nach ca. 6o Sekunden war eine nur für etwa 75 Sekunden konstant bleibende Druckdifferenz erreicht.Danach erhöhte sich die Druckdifferenz langsam über die Grenzen der Manometerkapazität weiter. Letzteres ist vermutlich auf Kapillarkondensation in den engen Poren zurückzuführen. Es wurde der für einige Zeit konstante Schenkelausschlag der Berechnung zugrundegelegt.

3.2.1.3. Lichtabsorption des Siliciumdioxids

Um festzustellen, ob die minimal in Lösung gehende Kieselsäure bzw. daran haftende Verunreinigungen die quantitative photometrische Bestimmung der Adsorptive stören,wurde frisch destilliertes Wasser 14 Tage lang mit überschüssiger Kieselsäure K_3 geschüttelt, die nicht gelöste Kieselsäure durch Zentrifugieren abgetrennt und die Extinktionen im Wellenlängenbereich zwischen 75o und 2oo m/u festgestellt. Dabei stiegen die Extinktionen E

im Wellenlängenbereich zwischen 75o und 2oo m/u kontinuierlich von E = .oo7 bis E = .485 an.Da sich die Größe der Extinktionen mit der Wellenlänge stark ändert und zusätzlich in den Adsorptionsversuchen die Kieselsäureeinwaagen, die Kieselsäuretype, die Zeitdauer , in der die Kieselsäure in Lösung gehen kann, variieren, wurde bei den photometrischen Messungen jeweils ein Blindwert mit den entsprechenden Kieselsäuremengen ermittelt.

3.2.2. Identitätsprüfung des Hämoglobins

Es wurden zwei verschiedene Handelspräparate, die unter der Bezeichnung "Hämoglobinum purum pulvis" und "Hämoglobin Proteasesubstrat nach Anson" gehandelt werden, auf ihre Identität geprüft.
Bei beiden Präparaten handelt es sich um Hämiglobin(=Methämoglobin), was aus den völlig deckungsgleichen Absorptionskurven hervorgeht.Eine mögliche Erklärung dafür wurde bereits gegeben(vgl. S.37).

Bei der Identitätsprüfung wurde folgendermaßen vorgegangen :

a) Spektroskopische Untersuchung

Es fand sich bei ausreichend konzentrierten Lösungen -bei einem pH unter 7 - im Rot die charakteristische pH-abhängige Absorptionsbande des Hämiglobin(642 -624 m/u [77]), die durch Reduktion verschwand.

b) Photometrische Untersuchung

Es wurden pH-abhängige Absorptionskurven ermittelt, wie sie von Schwerd[77] bereits abgebildet worden sind.

Da das charakteristische Maximum im Rot im erforderlichen Messbereich pH 7 wenig ausgeprägt ist, wurden die Messungen bei dem auch bei anderen Hämoglobin-Derivaten vorkommenden Maximum bei einer Wellenlänge von 4o7 nm durchgeführt.

3.2.3. Adsorptionsmessungen

Die Methylenblau-,Hämoglobin- und Toxin-Konzentrationen wurden photometrisch[*1] , die E.coli-Keimzahlen durch Keimzählung über eine Verdünnungsreihe und Ausspateln auf feste Agarplatten(Bebrütung 24Std. bei 37°C)bestimmt.

Die photometrischen Messungen wurden bei einer Wellenlänge von 664nm(Methylenblau),4o8nm(Hämiglobin) und 277nm(Staphylokokken -Enterotoxin) durchgeführt.

3.2.3.1. Bestimmung der Methylenblauadsorption

Je o,2 g der Adsorbentien[*2] wurden bei 2o°C 1 Stunde lang mit 2o ml einer o,1 %igen Methylenblaulösung unter gelegentlichem Umschütteln zur Reaktion gebracht und dann die Kieselsäurepartikel abzentrifugiert.
Die adsorbierte Menge a ergibt sich aus der Differenz der vorgelegten Menge v und der photometrisch ermittelten Restmenge r in der überstehenden Lösung(a,v und r in mg).

Die Volumina wurden so gewählt, daß sich jeweils ein Volumen von 2o ml mit 1% Adsorbens ergab.

[*1] Meßgerät: Spektrophotometer mit Gittermonochromator,Type PMD der Firma Zeiss

Quarzküvetten:a) Fahrstuhlküvetten 1cm Schichtdicke(Toxinbestimmung)
b) Durchflußküvette 1cm Schichtdicke (Methylenblau-,Hbbest.)

[*2] Beim Kohlegranulat entsprach o,2 g Kohle einer Granulateinwaage von o,32 g.

3.2.3.2. Bestimmung der Hämoglobinadsorption

Ausgehend von einer o,9%igen, jeweils frisch bereiteten, wässrigen Hämoglobinlösung wurden verschiedene Verdünnungen unter Zusatz von jeweils 1o% Phosphatpuffer *(pH 7) hergestellt.

Die Adsorbentien wurden zunächst bei 115°C 24 Std. **getrocknet. Die erforderlichen Adsorbensmengen *3 wurden dann entweder direkt in die Reaktionsgefäße eingewogen oder volumetrisch dosiert. Im zweiten Fall wurde einer wässrigen Suspension des Adsorbens(4 % SiO_2), die ebenfalls unter Zusatz von 1o% Phosphatpuffer(pH7) hergestellt wurde, das entsprechende Volumen(5 ml)unter Rühren der Suspension in das Reaktionsgefäß pipettiert. Die Adsorptivkonzentrationen wurden bei volumetrischer Dosierung des Adsorbens entsprechend umgerechnet.
Die nähere Charakterisierung der verwendeten Adsorbentien ist aus Tabelle 22 zu ersehen.

Zum Equilibrieren wurden die erforderlichen Mengen an Adsorbenssuspension und Hämoglobinlösungen verschiedener Konzentration in verschließbare Reaktionsgefäße pipettiert. Die Volumina wurden so gewählt, daß sich jeweils ein Volumen von 2oml mit 1% Adsorbens ergab. Diese Ansätze wurden 2 Stunden bei konstanter Temperatur leicht geschüttelt.
Diese Zeit war zur Einstellung des Adsorptionsgleichgewichtes ausreichend und für die photometrische Hämoglobin-Bestimmung gerade noch vertretbar. Die Hämoglobin-Lösungen neigten nämlich bei längerer Standzeit dazu, sich unter Grünfärbung zu zersetzen.

Die Sorbate wurden nach Einstellung des Adsorptionsgleichgewichtes durch Zentrifugieren (2o Minuten bei 38oo UPM)abgetrennt.

---

*Phosphatpuffer Merck

**vgl. Tab.21

*3 Alle Versuche beziehen sich auf eine Lösungsmenge von 2o ml mit 2oo mg Adsorbens, also einer Lösung mit 1 Gew.% Adsorbens.

Aus der nach Abtrennung der Adsorbate überstehenden Lösung wurde die Hämoglobin-Restmenge* r photometrisch bestimmt.
Die adsorbierte Hämoglobin-Menge a ergibt sich aus der Differenz der vorgelegten Menge v und der Restmenge r.
Weiterhin wurden für die spätere Auswertung des Adsorptionsverlaufes die Ausdrücke
m/a, der Quotient aus der Menge des Adsorbens und der Menge des Adsorptivs und
1/r, die reziproke Menge des in der Lösung verbliebenen Adsorptivs gebildet.

Natürlich muß bei Erstellung einer Adsorptionsisotherme das Adsorptiv im Überschuß vorliegen, während bei der therapeutischen Anwendung das Adsorptiv sinnvollerweise durch einen Überschuß an Adsorbens völlig gebunden werden sollte.

3.2.3.3. Bestimmung der Staphylokokken-Enterotoxin-Adsorption

Je 2o,o mg Kieselsäure wurde mit 2ml einer Toxinlösung(s.u.) unter häufigem Umschütteln bei 2o ±o,o1°C 6o Minuten lang equilibriert und das Adsorbat anschließend durch Zentrifugieren (2o Min. bei 38oo UPM) abgetrennt.
Die im Adsorbat adsorbierte Toxinmenge a ergibt sich aus der Differenz der vorgelegten Menge v in 2ml Lösung und der photometrisch ermittelten, im Überstand befindlichen Restmenge r in 2ml Lösung.
Zur Ausschaltung von Meßfehlern bei der photometrischen Toxinbestimmung (Absorptionsmaximum bei 277 nm) durch in Lösung gehende Kieselsäure wurde zu jedem Ansatz ein Blindwert(2o mg SiO_2 + 2ml physiologische Kochsalzlösung) ermittelt.

Zur Herstellung der Toxinlösung wurden 5 Fläschchen mit je 1,5/ug Staphylokokken-Enterotoxin C_1 (lyophilisiert, standardisiert) mit je 2ml physio-

*r ist bezogen auf 2o ml

logischer Kochsalzlösung*1 mittels Injektionsspritze versetzt. Die erhaltenen fünf Lösungen wurden sorgfältig zusammengegossen. Für den Versuch I-IV(vgl. S. 115) wurden von dieser Stammlösung 2ml vorgelegt, die jeweils 1,5 µg Toxin enthielten. Für Versuch V wurde eine größere Toxinmenge und zwar 2,59 µg in 2ml Lösung vorgelegt.

Als Adsorbentien wurden die porösen Kieselsäuren K_3, K_6, K_7 und ein handelsübliches Kieselsäurepräparat*2 herangezogen.
K_3 wird bereits von der Herstellerfirma hochgereinigt geliefert. K_6 und K_7 wurde vor der Verwendung folgendermaßen gereinigt:
Je 1o g wurden mit angesäuertem heißem Wasser(5oo ml H_2O + 5 ml o.1 n HCl) gewaschen und anschließend mit reichlich Aqua destillata gespült. Nach Abnutschen wurden die Kieselsäuren bei 115°C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Das handelsübliche Kieselsäurepräparat*2 wurde nicht vorbehandelt , um die Zusammensetzung nicht zu verändern.
Von den reinen Kieselsäuren wurden 2o.o mg, von dem Kieselsäurepräparat 25.3 mg entsprechend 2o.o mg Kieselsäure eingewogen.

---

*1 Die physiologische Kochsalzlösung wurde durch einen Membranfilter GS o.22 µ filtriert und die ersten Milliliter verworfen.

*2 Entero-Teknosal der Fa.Taco

3.2.3.4. Bestimmung der Escherichia-coli-Adsorption

Je 15o mg sterilisiertes Siliciumdioxid K_1 wurde mit jeweils 5 ml einer Bakterienaufschwemmung unterschiedlichen Keimgehaltes unter leichtem Schütteln 12o Minuten bei Zimmertemperatur equilibriert und das Adsorbat anschließend durch Filtration durch ein steriles Papierfilter abgetrennt. Die Differenz aus der vorgelegten Anzahl Keime(= Keimzahl in 5ml Bakterienaufschwemmung nach Filtration) und der Restkeimzahl(= Anzahl der in 5ml Filtrat befindlichen freien Keime nach Abtrennen des Adsorbates) ergibt die von 15o mg Kieselsäure K_1 adsorbierte Anzahl Keime E.coli. Alle in Tabelle 7 angegebenen Keimzahlen sind Mittelwerte aus jeweils 6 durchgeführten Versuchsansätzen.

Das Arbeiten mit lebenden Organismen macht ein Sterilisieren aller Adsorbentien, Lösungen und Instrumente erforderlich.
Die Sterilisation des in das Reaktionsgefäß * eingewogenen Adsorbens erfolgte im Trockenschrank (18o°C,2 Std.), ebenfalls die Sterilisation der Papierfilter, die in je einen Trichter eingelegt und in Aluminiumfolie eingewickelt wurden.
Die für die Bakterienaufschwemmungen und Verdünnungsreihen verwendete physiologische Kochsalzlösung wurde in verschlossenen Infusionsflaschen bei 12o°C 2o Minuten autoklaviert, ebenfalls der für die quantitative Keimbestimmung benötigte Agar.

Zur Herstellung der Bakterienaufschwemmungen unterschiedlichen Keimgehaltes wurde eine 24 Std.- Bouillon- Kultur von Escherichia coli zentrifugiert , der Rückstand mehrmals mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und in einem entsprechenden Volumen physiologischer Kochsalzlösung suspendiert. Durch Verdünnung im Verhältnis 1:1o wurden Auf - schwemmungen unterschiedlicher Keimzahl erhalten(vgl.Tabelle 7).

---

* Reagenzgläser mit Metallkappen

Eine Abtrennung der Adsorbate durch Zentrifugieren, wie es bei den vorherigen Moleküladsorptionsversuchen möglich war, ist hier nicht mehr sinnvoll, da die nicht adsorbierten, freien Bakterien dabei ebenfalls sedimentieren.

Es wurden bei den Bakterienadsorptionsversuchen zwei Wege der Abtrennung beschritten. Die Sedimentation in Standzylindern und die Filtration durch sterile Papierfilter[*].

Die Bakterienadsorbate wurden im Gegensatz zu den Moleküladsorbaten vom Papierfilter zurückgehalten.

Um den in Kontrollversuchen festgestellten filterassoziierten Keimreduktion durch das Filtermaterial weitgehend auszuschalten, wurde jede der zugesetzten, in Keimgehalt verschiedenen Bakteriensuspensionen vor der Keimzahlbestimmung filtriert.

Die Berechnung der auf Adsorption zurückzuführenden Keimreduktion wurde auf den Keimgehalt von Salzlösung filtrate und nicht auf den Keimgehalt der vorgelegten unfiltrierten Bakteriensuspension (Ind.) bezogen. Analog verfuhr Eisenberg [60] zur Ausschaltung des Filtereinflusses.

Zur Bestimmung der Keimzahl wurde jede zu bestimmende Bakteriensuspension in einer Verdünnungsreihe im Verhältnis 1:10 verdünnt. Von den erhaltenen Verdünnungen $1o^{-1}$ bis $1o^{-7}$ wurden je 0,1 ml der Verdünnungsstufen $1o^{-5}$, $1o^{-6}$ und $1o^{-7}$ auf sterile Agarplatten[**] ausgestrichen und nach Bebrütung (24 Std., 37°C) die Zahl der gewachsenen Kolonien ausgezählt.

Die Aussaatmenge zur Bestimmung der vorgelegten Keimsuspensionstiter des Filtrates und der Restkeimzahl mußte wegen der Bestimmung der Bakterien zum gleichen Zeitpunkt erfolgen.

---

[*] Rundfilter MN615,Ø 90 mm, Fa. Macherey-Nagel, Düren

[**] 25 g Standard II Nähragar 7560 Merck + 1g Glucose auf 1 Liter Aqua destillata

3.2.4. Desorptionsmessungen

3.2.4.1. Bestimmung der Hämoglobin- Desorption aus der Kieselsäure K_1 in Abhängigkeit von der Zeit ($20^{o}C$, pH_7 gepuffert)

Es wurden zwölf mit Hämoglobin gesättigte K_1-Adsorbate mit je 10 ml Desorptionslösung bei $20^{o}C$ verschieden lange geschüttelt.
Die maximale Zeitdauer betrug 3 Stunden, die Zeitabstände 30 Minuten (je 2 Ansätze pro 30 Min.).
Nach der jeweiligen Equilibrationszeit wurde zentrifugiert und die im Überstand befindliche desorbierte Hämoglobinmenge ermittelt.

Eine kontinuierliche Messung ohne größere Zeitabstände der Meßpunkte ist wegen des zeitaufwendigen Abtrennens des Adsorbates durch Zentrifugieren nicht möglich.

Grundsätzlich besteht die Möglichkeit, nur e i n Adsorbat mit einem bestimmten Volumen Desorptionslösung zu versetzen und unter Rühren nach bestimmten Zeiten Proben zu entnehmen und nach Abtrennung des schwebenden Anteils den desorbierten Anteil zu bestimmen.
Von dieser Methode wurde wegen des entstehenden Volumenfehlers abgesehen und für jeden Meßwert je zwei Adsorbate hergestellt.

Zur Herstellung der mit Hämoglobin gesättigten Adsorbate wurden je 0.2 g der Kieselsäure K_1 mit 10 ml einer auf pH_7* gepufferten Hämoglobinlösung (68.3 mg Hb in 10 ml Lösung) unter häufigem Umschütteln bei $20^{o}C$ in verschließbaren Zentrifugengläsern 2 Stunden lang equilibriert.
Nach Zentrifugieren (20 Min., 3800 UPM) wurde der Überstand quantitativ abgegossen. Der jeweilige rot- braun gefärbte Rückstand war das im jeweiligen Desorptionsansatz verwendete Adsorbat.

---

*Zusatz von 10% Phosphatpuffer Merck pH_7

Die im Adsorbat gebundene Hämoglobinmenge ergab sich aus der Differenz der vorgelegten Hämoglobinmenge (68.3 mg) und der photometrisch ermittelten Restmenge im Überstand.

3.2.4.2. Bestimmung des Ausmaßes der Desorption des Hämoglobins von der Kieselsäure K_1 in 1o Eluationsschritten (2o°C, pH_7 gepuffert)

Da nach den bisher bekannten Gesetzmäßigkeiten[88] mit der Zunahme des Porendurchmessers mit einer Zunahme der Desorption zu rechnen ist, wurde zur Herstellung der Adsorbate die weitporige Kieselsäure K_1 in der Annahme verwendet, daß bei dieser Kieselsäure das Ausmaß der Desorption im Vergleich zu den anderen Kieselsäuretypen am größten ist.

Als Desorptionslösung wurde Aqua destillata mit 1o% Phophatpuffer (pH_7) mit überschüssiger Kieselsäure K_1 gesättigt. Die nicht in Lösung gegangene Kieselsäure wurde abzentrifugiert. Dadurch ist gewährleistet, daß während des Desorptionsvorganges keine Kieselsäure aus dem Adsorbat in Lösung geht.

Zur Herstellung der mit Hämoglobin gesättigten Adsorbate wurden je o.1 g der Kieselsäure K_1 mit 1o ml einer auf pH_7 gepufferten* Hämoglobinlösung(82.6 mg Hb in 1o ml Lösung) unter häufigem Umschütteln bei 2o°C in verschließbaren Zentrifugengläsern 3o Minuten equilibriert.
Nach Zentrifugieren (2o Min., 38oo UPM) wurde der Überstand quantitativ abgegossen.
Der rot- braun gefärbte Rückstand war das jeweilige Adsorbat, aus dem in 1o Eluationsschritten Hämoglobin desorbiert wurde.
Die im Adsorbat gebundene Hb-Menge(vgl."a" im Desorptionsschritt Nr.1, Tab.19) ergab sich aus der Differenz der vorgelegten Hämoglobin - Menge(82.6 mg) und der photometrisch ermittelten Restmenge im Überstand.

---

*Zusatz von 1o% Phosphatpuffer Merck $pH_{7.o}$

Das Hb- gesättigte Adsorbat wurde in 1o ml Desorptionslösung* dispergiert und 3o Minuten im Thermostaten bei 2o°C unter Schütteln equilibriert. Nach Zentrifugieren (2o Min., 38oo UPM) wurde der Überstand quantitativ abgegossen und zu dem rot-braunen Rückstand(Adsorbat) das dem abgegossenen Volumen entsprechende Volumen Desorptionslösung hinzugefügt. Der Rückstand(Adsorbat) wurde wieder wie vorher dispergiert und 3o Min. bei 2o°C equilibriert.Nach Zentrifugieren und quantitativem Abgießen des Überstandes wurde der Rückstand wieder in dem entsprechenden Volumen Desorptionslösung suspendiert usw.

Dieser Vorgang wurde wiederholt, bis das Adsorbat insgesamt 1o mal mit Desorptionslösung ausgewaschen war.
Der Versuch wurde vierfach durchgeführt. Die jeweils angegebenen Meßwerte sind Mittelwerte aus den vier Versuchen.

Die in den einzelnen Desorptionsschritten (vgl. Tab. 19) desorbierte Hämoglobinmenge (=b) wurde aus dem jeweiligen abgegossenen Überstand photometrisch ermittelt. Die im Adsorbat adsorbiert gebliebene Hämoglobinrestmenge(=a-b) ergab sich durch Subtraktion der desorbierten Hämoglobinmenge(=b) von der ursprünglich im Adsorbat gebundenen Hämoglobinmenge v o r der jeweiligen Desorptionsschritt(=a).
Das "a" des 2.- 1o. Desorptionsschrittes ist identisch mit dem "a-b" der vorausgegangenen Desorptionsstufe, da immer d a s s e l b e Adsorbat stufenweise mit Desorptionslösung equilibriert wurde.
Für die Berechnung des "a" des 1.Schrittes(=im Adsorbat gebundene Hämoglobinmenge vor dem ersten Desorptionsschritt) vergleiche S.54.

---

* Vgl. S.54

4. ERGEBNISSE

4.1. Ergebnisse der morphologischen Untersuchung

Die untersuchten Adsorbentien zählen zu den Kolloiden,d.h. definitionsgemäß zu dispersen Systemen mit Partikelgrössen, die sich zwischen molekularen Dimensionen und mikroskopischer Sichtbarkeit bewegen. Die chemische Zusammensetzung bzw. das Molekulargewicht reicht zur Charakterisierung nicht aus. Entscheidend wichtig ist der Aspekt der Größe und Form der Einzelpartikel, sowie der Art und Größe vorhandener Aggregate bzw. der durch Aggregation entstehenden Hohlräume.
Bei der Betrachtung von Adsorptionsphänomenen , d.h. Grenzflächenreaktionen , trägt eine Analyse der Art und Lage der Grenzflächen sowie der Adsorptionshohlräume zum besseren Verständnis der beobachteten Erscheinungen bei.
Die Transmissions-Elektronenmikroskopie (TEM) ist ein hierzu sehr geeignetes Mittel. Durch das hohe Auflösungsvermögen kann der morphologische Feinbau dieser Adsorbentien analysiert werden.
Die TEM hat gegenüber anderen Methoden der Charakterisierung der Hohlraumstruktur wie z.B. der Bestimmung des spezifischen Porenvolumens und des mittleren Porendurchmessers durch Messung der Gasadsorption bzw. durch Quecksilberpenetrationsmessungen den Vorteil, nicht theoretische, idealisierte Größen, sondern die vorliegenden Verhältnisse zu offenbaren(z.B. die Unregelmäßigkeit der Adsorptionsgrenzflächen und die wechselnde Größe der Adsorptionshohlräume).
Da nur wenige elektronenmikroskopische Untersuchungen [83,89] über Kieselsäuregele vorliegen und sich die verschiedenen im Handel erhältlichen Rohstoffe im morphologischen Feinbau stark unterscheiden, wird die folgende TEM-Studie den Adsorptionsversuchen vorausgeschickt.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden von den in Tabelle 22 aufgeführten gefällten Kieselsäuren die Typen K_1,K_3,K_4,K_6 und K_7 elektronenoptisch analysiert. Eine Untersuchung von K_5 erübrigte sich, da K_6 als Vertreter dieses Kieselsäuretypes analysiert wurde. Ebenfalls stehen K_1 und K_3 stellvertretend für das nicht analysierte K_2, welches zum gleichen Kiesel-

säuretyp zählt.
Daneben wurden die pyrogenen Kieselsäuren K_8 und K_9 vergleichsweise im TEM beobachtet. Diese werden im Gegensatz zu den obigen SiO_2-Typen allgemein als porenfrei angesehen. Ferner wurden als Vertreter eines chemisch völlig verschiedenen, kolloidalen Adsorbens die Aktivkohlen AK_1 und AK_2 zum Vergleich des morphologischen Feinbaues herangezogen.

Während verschiedener Beobachtungsserien wurden über 100 TEM-Aufnahmen angefertigt, wobei die hier gezeigten nur eine kleine Auswahl mit typischen Merkmalen darstellen.
Um einen Vergleich des morphologischen Feinbaus zu ermöglichen, werden von jedem untersuchten Adsorbens TEM-Aufnahmen gleicher Vergrösserung (406 000 : 1) gegenübergestellt.
Zusätzlich wurden von den SiO_2-Proben auch Elektronen-Beugungsanalysen durchgeführt, um festzustellen, ob alle vorliegenden Siliciumdioxidproben amorpher Natur sind. Da der Charakter der Beugungsdiagramme bei allen SiO_2-Proben identisch war, wird nur ein typisches Diagramm wiedergegeben.
Eine derartige Beugungsaufnahme zeigt Abb.1.
Im Beugungsdiagramm sind zwei breite Interferenzbänder zu erkennen, die bei amorphen Schichten mit nichtperiodischer Atomanordnung durch Nahordnungseffekte auftreten können. Nach Radcewski und Richter [89], die ähnliche Beugungsaufnahmen von SiO_2-Solen anfertigten, beruhen diese diffusen Beugungsmaxima auf einem kontinuierlichen, nicht kristallinen Netzwerk , in dem jedes Silicium-Atom tetraederartig von je vier Sauerstoffatomen umgeben ist.

Der Besprechung der einzelnen untersuchten Adsorbentien muß vorausgeschickt werden, daß die Nomenklatur bzgl. der Begriffe "Primärteilchen" bzw. "Kolloidteilchen" in der Literatur nicht einheitlich ist.
In der vorliegenden Arbeit werden die Begriffe so verwendet, wie sie von Kautsky [90] vorgeschlagen wurden.
Im folgenden wird darauf eingegangen.

Abb.1: Elektronenbeugungsdiagramm, typisch für alle hier untersuchten Siliciumdioxidtypen.
Das Beugungsdiagramm zeigt die amorphe Natur dieser Kieselsäuren. Es sind zwei breite Interferenzbänder zu erkennen, die bei amorphen Schichten mit nichtperiodischer Atomanordnung durch Nahordnungseffekte auftreten können.

Abb.2 : Gefällte Kieselsäure K_3 (Präparation in Aqua dest.)

Elektronenmikroskopische Aufnahme(Vergrößerung 4o6ooo fach): Diese Kieselsäure zeigt die für gefällte Kieselsäuren typische, durch Aggregation von SiO_2-Kolloidteilchen gebildete,lockere, offene Flockenstruktur.Deutlich zu erkennen sind feine,kapillarartige Hohlräume zwischen den Kolloidteilchen, die sogenannten Primärkanäle(Durchmesser 5-1o Å), daneben Hohlräume, deren Durchmesser (mittlerer Porendurchmesser 13o Å) weit über denen der Primärkanäle liegen,die sogenannten Sekundärkanäle.

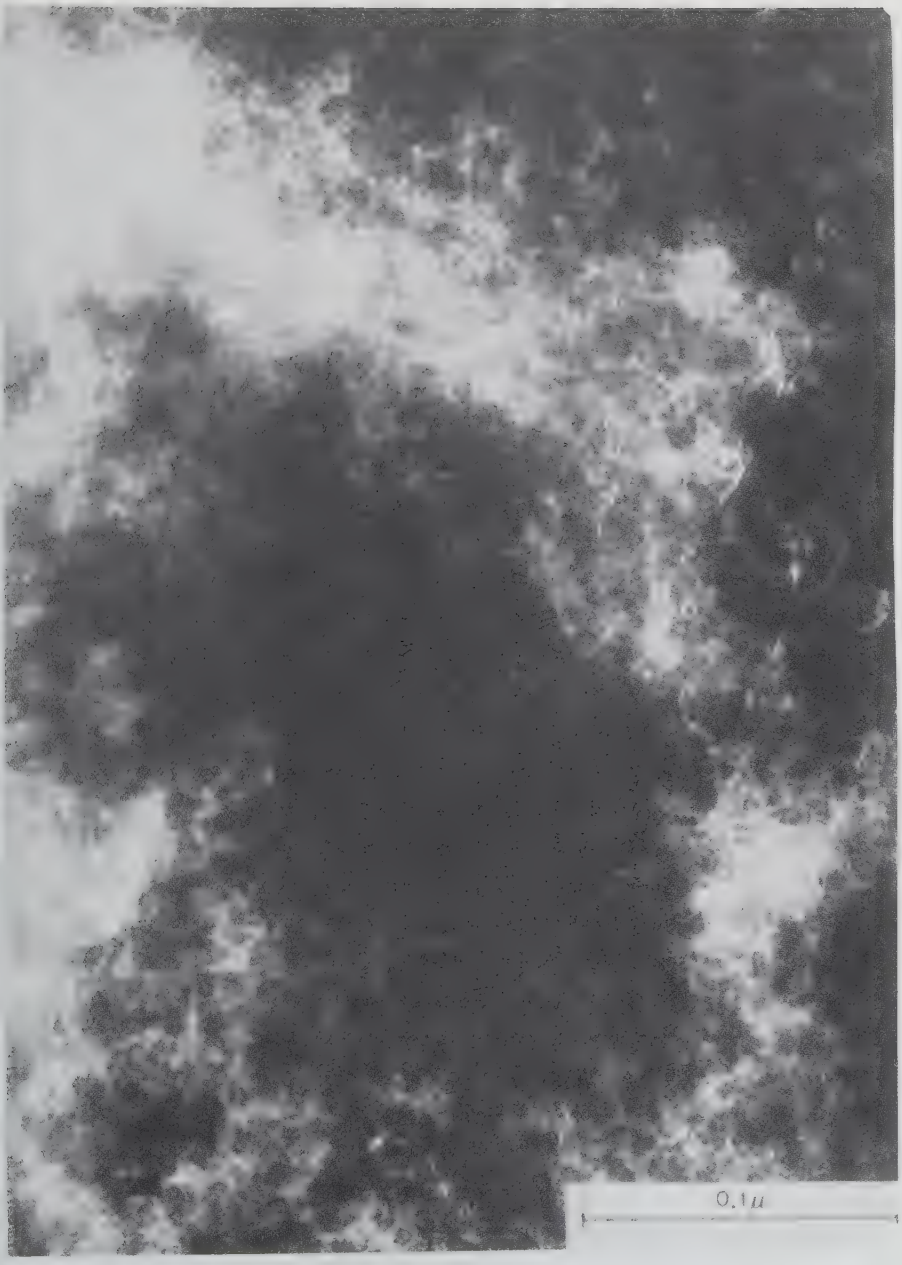

0.1 μ

Abb.3: Gefällte Kieselsäure K_1 (Präparation in Aqua dest.)
Elektronenmikroskopische Aufnahme (Vergrößerung 4o6 ooo : 1) :
Diese Kieselsäure besitzt einen der Kieselsäure K_3 sehr ähnlichen morphologischen Feinbau.
Der mittlere Porendurchmesser (Sekundärporen) beträgt hier 18o Å.

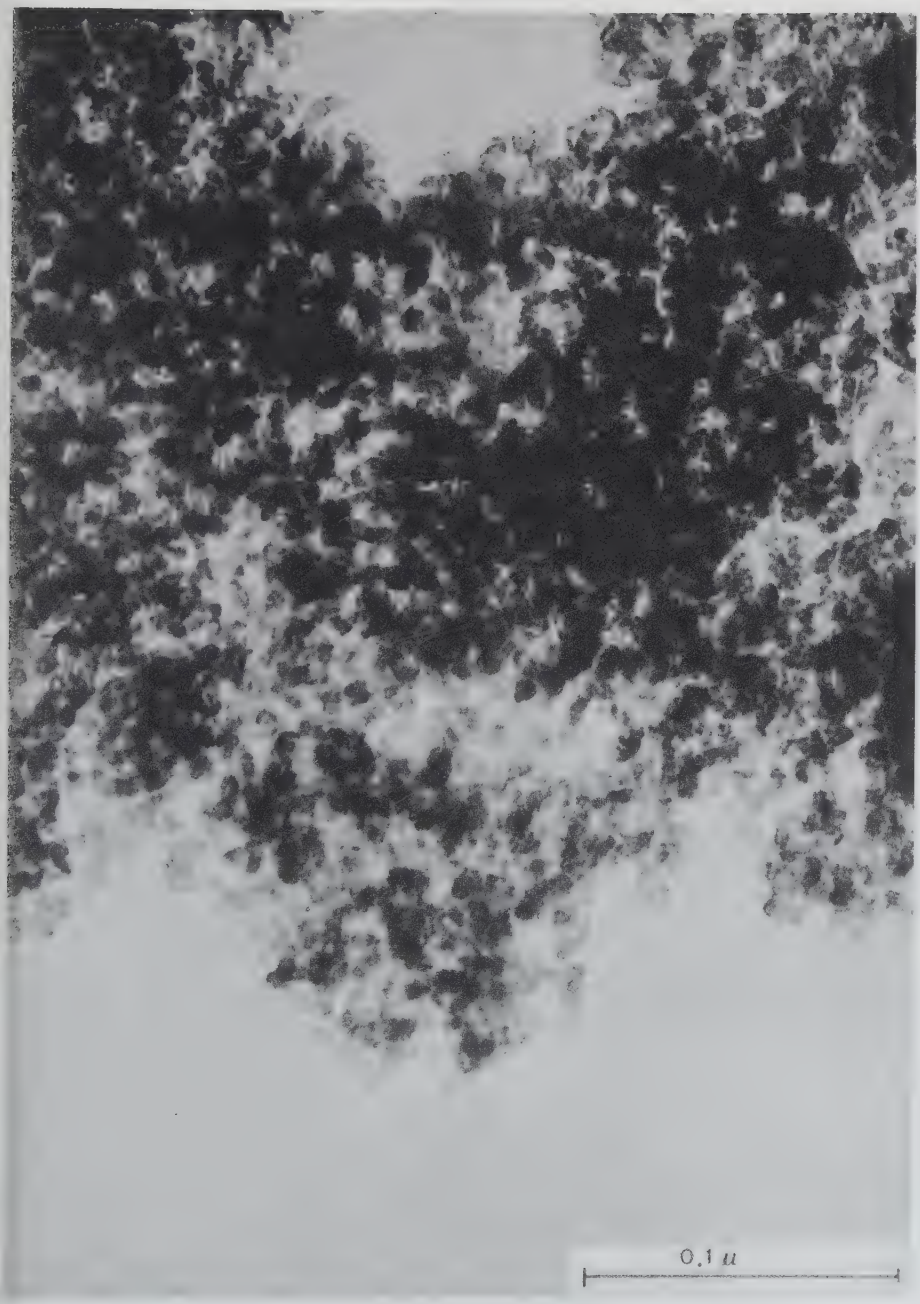

0,1 u

Abb.4 : Gefällte Kieselsäure K_6 (Präparation in Aqua dest.)

Elektronenmikroskopische Aufnahme (Vergrößerung 4o6 ooofach) : Diese Kieselsäure besitzt ebenfalls die typische Flockenstruktur. Bei der Größenverteilung der Kolloidteilchen sind zwei Maxima erkennbar: das eine liegt zwischen 6o und 18o Å, das andere zwischen 6oo und 8oo Å. Diese Tatsache bedingt zwei grundsätzlich verschiedene Durchmesser der Primärkanäle einerseits und der Sekundärkanäle andererseits.

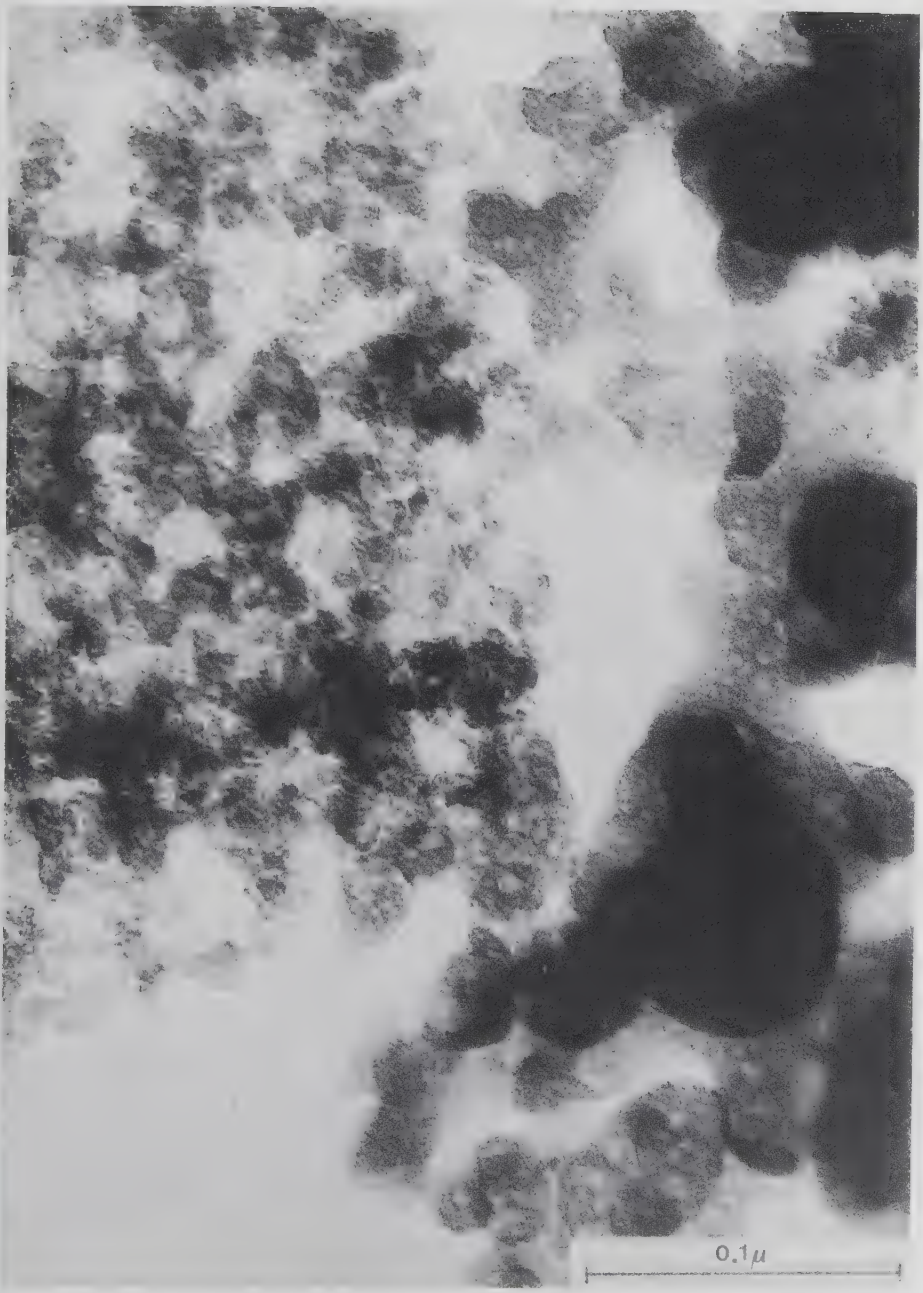

0.1μ

Abb. 5 : Gefällte Kieselsäure K_7 (Präparation in Aqua dest.)
Elektronenmikroskopische Aufnahme (Vergrößerung 4o6 ooofach):
Diese Kieselsäure besitzt ebenfalls die typische, offene Flockenstruktur.
Die Weite der Primärkanälchen liegt in der Größenordnung von wenigen Ångström, die der Sekundärkanäle bei 4oo- 3ooo Å.

0.1 μ

Abb. 6: Pyrogene Kieselsäure K_8 (Präparation in Aqua dest.)
Elektronenmikroskopische Aufnahme (Vergrößerung 4o6ooo fach):
Nach einer Präparation in Aqua destillata scheint der Aufbau dieser pyrogenen Kieselsäure hinsichtlich der zu einer Flocke aggregierten Kolloidteilchen und der Hohlraumstruktur dem von gefällten Kieselsäuren sehr ähnlich zu sein.

0,1 μ

Abb.7: Pyrogene Kieselsäure K_8 (Präparation in Petroläther)
Elektronenmikroskopische Aufnahme (Vergrößerung 4o6 ooofach):
Zur Vermeidung von Quellung im Suspensionswasser wurde diese pyrogene Kieselsäure vergleichsweise in Petroläther aufgeschwemmt.
Die Gestalt der Teilchen erscheint abgerundeter, die Hohlraumstruktur bleibt dennoch erhalten.

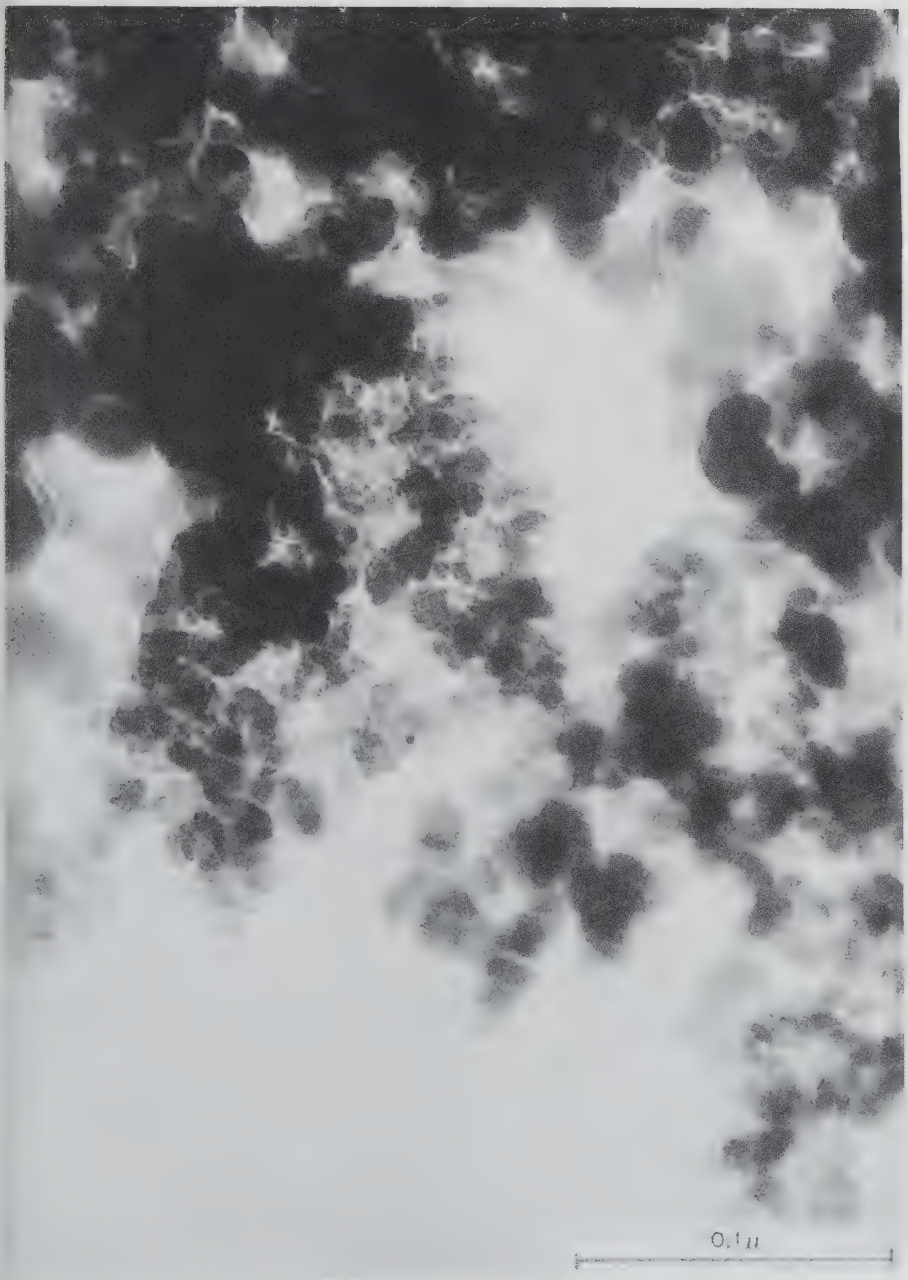

0.1 μ

Abb.8: Pyrogene Kieselsäure K_9 (Präparation in Aqua dest.)
Elektronenmikroskopische Aufnahme(Vergrößerung 4o6 ooofach):

Auch diese pyrogene,als porenlos geltende Kieselsäure zeigt eine Hohlraumstruktur, die der der gefällten Kieselsäuren sehr ähnlich erscheint.

0.1μ

Abb. 9. Pyrogene Kieselsäure K_9 (Präparation in Petroläther)
Elektronenmikroskopische Aufnahme (Vergrößerung 4o6 ooofach):

Bei vergleichsweiser Aufschwemmung dieser pyrogenen Kieselsäure in Petroläther erscheint die Gestalt der Kolloidteilchen gegenüber einer Aufschwemmung in Wasser abgerundeter. Die porenähnliche Struktur bleibt dennoch erhalten.

0.1μ

Abb.1o: Gefällte Kieselsäure K_4 (Präparation in Aqua dest.)
Elektronenmikroskopische Aufnahme(Vergrößerung 4o6ooofach):

Diese Kieselsäure zeigt einen für gefällte Kieselsäuren untypischen morphologischen Feinbau.
Auffallend sind die besonders feinen Kolloidteilchen und besonders enge , durch Aggregation der Kolloidteilchen gebildete Primärkanälchen. Die Sekundärkanäle sind mit einem mittleren Durchmesser von 22 Å bedeutend enger als bei den übrigen gefällten Kieselsäuren.

0,1 µ

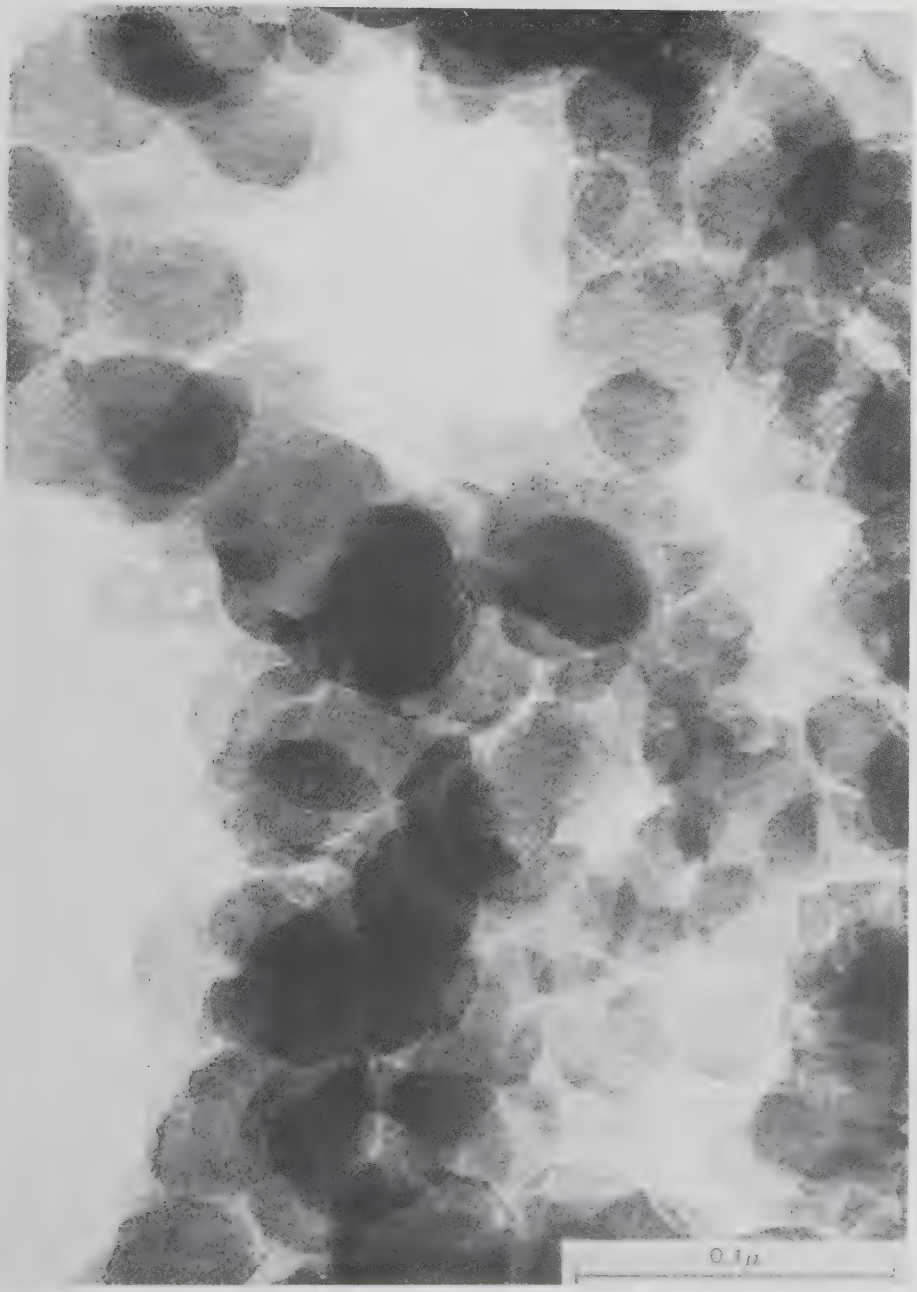
Abb. 11: Aktivkohle AK_1 (Präparation in Aqua dest.)
Elektronenmikroskopische Aufnahme (Vergrößerung 4o6 ooo fach):

Diese medizinische Aktivkohle ähnelt im Hinblick auf die extreme Engporigkeit des Hohlraumsystemes der Kieselsäure K_4.

0.1 μ

Abb.12: Aktivkohle AK_2 (Präparation in Aqua dest.)
Elektronenmikroskopische Aufnahme (Vergrößerung 4o6 ooofach):

Das morphologische Erscheinungsbild dieser medizinisch nicht verwendeten Rußkohle ist dem der gefällten Kieselsäuren K_1,K_3,K_6 und K_7 ähnlich.Diese Aktivkohle besteht im Gegensatz zur medizinischen Kohle AK_1 aus zu einer Flocke aggregierten Kolloidteilchen.Letztere sind besonders groß und bilden entsprechend große Poren.


0.1 μ

4.1.1. Gefällte Kieselsäure K_3

Anhand der gefällten Kieselsäure K_3 mit einer BET- Oberfläche von 3oo m^2/g soll die morphologische Feinstruktur erläutert werden.
Es gelang, als kleinste Einheiten Einzelpartikel sichtbar zu machen, welche den von Kautsky [9o] beschriebenen "Kolloidteilchen" entsprechen.
Die in Abbildung 2 zu sehenden Kolloidteilchen sind leicht unregelmäßige , nicht ganz runde , im Bild wenig scharf begrenzte Gebilde mit einem Durchmesser von 5o- 15o Å. Die von Kautsky im Elektronenmikroskop betrachteten Kolloidteilchen lagen mit einem mittleren Durchmesser von 145 Å in der gleichen Größenordnung.
Nach einer theoretischen Betrachtung von Iler [91] sind Kolloidteilchen, die eine nicht ganz runde, sondern leicht unregelmäßige Gestalt aufweisen, wie die in Abbildung 2 zu erkennenden Kolloidteilchen, bereits durch Aggregation noch kleinerer, runder Partikel entstanden.
Diese kleinen runden Partikel lagern sich primär zu Aggregaten zusammen und werden dann durch Dehydratation an den Kontaktstellen zu den in Abbildung 2 zu sehenden Kolloidteilchen verschmolzen.
Diese Kolloidteilchen bestehen nach Iler [91] aus einer kompakten Siloxanstruktur, bei der nur noch die äußere Oberfläche Silanolgruppen trägt.
Radczewski [89] fand, daß das Volumen solcher Kolloidteilchen größer ist, als es dem Molekulargewicht entspricht.Dies begründet er mit dem Vorhandensein einer an der Oberfläche adsorbierten Wasserschicht.
Wie die TEM-Abbildung 2 zeigt,lagern sich diese unregelmäßig geformten Kolloidteilchen zu dreidimensionalen Aggregaten zusammen.
Sutherland [92] ,der ein geometrisches Modell für den Aufbau von Flocken entwickelte und den Aufbauprozess als Kollision von Partikeln und "Partikelclustern" vermutet, bezeichnete diese primär entstehenden Aggregate als "Cluster".Diese Bezeichnung ist im folgenden übernommen.
In diesen Aggregaten bzw. Clustern sind, wie aus Abbildung 2 hervorgeht , die Kolloidteilchen noch einzeln -also nicht verschmolzen- zu erkennen und weisen feine,kapillarartige Hohlräume mit einem Durchmesser in der Größenordnung von 5-1o Å auf.
Diese Kapillaren sollen in Übereinstimmung mit Kautskys Nomenklatur als "Primärkanälchen" bezeichnet werden.
Die Cluster bestehen aus einer wechselnden Zahl von aggregierten Einzel-

partikeln und weisen daher verschiedene Größen auf.
Die Cluster verketten sich nach dem geometrischen Flockenmodell von Sutherland zu noch größeren Clustern, diese wiederum lagern sich zu einem weiteren dreidimensionalen Netzwerk zusammen. Auf diese Weise entstehen Aggregate, die von Sutherland als "Flocken" bezeichnet wurden.
Abbildung 2 zeigt insgesamt einen Ausschnitt aus solch einer "Flocke". Die einzelnen Cluster, aus denen die Flocke durch Aggregation hervorgeht, sind nicht mehr als solche zu erkennen.
Die Flocken weisen aufgrund ihrer lockeren, offenen Struktur weitere Hohlräume auf, deren Durchmesser weit über denen der Primärkanälchen liegen. Diese größeren Hohlräume werden im folgenden als "Sekundärkanäle" bezeichnet. Sie sind nicht mehr systematisch zu erfassen, da sie in Abhängigkeit von Form und Größe der Aggregate verschiedene Gestaltung und Weite aufweisen. Für den Durchmesser der Sekundärkanäle können daher nur Näherungswerte angegeben werden. Sie sind aber für zahlreiche größere Moleküle zugängliche "Adsorptionshohlräume".
In Abbildung 2 findet sich im linken und rechten oberen Quadranten eine deutlich sichtbare Sekundärpore, welche sich , beidseitig von dickeren Aggregaten umschlossen, in wechselnder Breite bis an den rechten unteren Bildrand fortsetzt.
Die Einschnürungen (bzw. Ausbuchtungen) der Pore wurden bereits von McBain [93] vermutet. Nach seiner Hypothese, der sog. "constriction theory", haben die Poren keinen konstanten Durchmesser, sondern weisen Einschnürungen auf, die man schematisch folgendermaßen zeichnen kann:

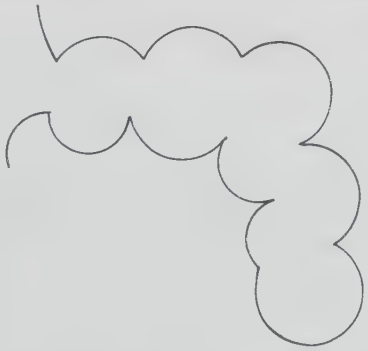


Abb.13: Einschnürungen einer Sekundärpore Schematische Darstellung

Die Einschnürungen und Ausbuchtungen bedingen ein unterschiedliches Wandern der Menisken bei Füllung(Adsorption) und Entleerung(Desorption) der Poren; bei der Adsorption bilden sich Menisken in den Ausbuchtungen, bei der Desorption nahe den Einschnürungen der Pore ,womit er die Erscheinung der Hysterese, d.h. den unterschiedlichen Verlauf von Adsorptions- und Desorptionsisothermen, erklärte.
Wie die TEM-Abbildung 2 zeigt, haben im deutlich sichtbaren Randbereich der Eintrittspore die Einschnürungen etwa einen Durchmesser von 6o Å, die Ausbuchtungen einen solchen von 15o Å. Von der Herstellerfirma wird ein mittlerer Porendurchmesser von 13o Å angegeben.

4.1.2. Gefällte Kieselsäure K_1

Diese gefällte Kieselsäure ähnelt im Aufbau und in den Porendimensionen weitgehend der Type K_3 (vgl.Abb.3).
Es finden sich ebenfalls Kolloidteilchen regelmäßiger Größe mit engen Primärkanälchen und ausgedehnten Sekundärporen. Die spezifische BET-Oberfläche wird vom Hersteller mit 26o m^2/g angegeben(vgl. Tab. 22), die mittlere Porenweite mit 18o Å.
Bei der vom Hersteller nicht angegebenen Bestimmungsmethode der Porenweiten wurden offenbar wiederum nur die Sekundärkanäle erfaßt.

4.1.3. Gefällte Kieselsäure K_6

Es handelt sich um eine gefällte Kieselsäure mit einer BET-Oberfläche von 24o m^2/g (vgl. Tab. 22).
Wie aus der TEM-Abbildung 4 hervorgeht, ist dieser Siliciumdioxidtyp aus stark aggregierten Kolloidteilchen zusammengesetzt.
Bei der Größenverteilung der Kolloidteilchen sind zwei Maxima erkennbar; das eine liegt zwischen 6o und 18o Å, das andere zwischen 6oo und 8oo Å.
Diese Tatsache bedingt zwei grundsätzlich verschiedene Durchmesser der Primärkanäle einerseits und der Sekundärkanäle andererseits.
Dieses Phänomen wurde nur bei diesem Kieselsäuretyp beobachtet, während die anderen Sorten meist Kolloidteilchen nur einer Größenordnung aufweisen.

4.1.4. Gefällte Kieselsäure K_7

Die spezifische Oberfläche der gefällten Kieselsäure K_7 liegt bei 23o m^2/g (BET)(vgl. Tab. 22).
Wie aus Abbildung 5 hervorgeht, haben die zu einer Schuppe aggregierten Kolloidteilchen einen Durchmesser in der Größenordnung von 15o Å. Wieder können deutlich Primär- und Sekundärkanäle unterschieden werden. Die Weite der Primärkanälchen liegt in der Größenordnung von wenigen Ångström, die der Sekundärkanäle bei 4oo-3ooo Å.

4.1.5. Pyrogene Kieselsäuren K_8 und K_9

Die spezifische BET*-Oberfläche von dem Siliciumdioxidpräparat K_9 beträgt 38o m^2/g, die von Typ K_8 beträgt 23o m^2/g.
Der Durchmesser der Kolloidteilchen wird im Falle von Typ K_9 mit o,oo7 /um (= 7o Å) angegeben, was größenordnungsmäßig mit den eigenen TEM-Messungen übereinstimmt (s.Abb.6,7,8,9).
Die Teilchengröße der Kieselsäureprobe K_8 wird mit o,o12/um(=12o Å) angegeben.
Nach einer Präparation in Aqua destillata scheint der Aufbau dieser pyrogenen Kieselsäuren hinsichtlich der polygonalen Form der Kolloidteilchen und des Erscheinungsbildes der Poren dem von gefällten Kieselsäuren sehr ähnlich zu sein, obwohl sie sich in der Praxis durch ein hohes Quellvermögen und Thixothropie unterscheiden. Die Hersteller betonen jedoch den vorwiegend kugelförmigen Charakter der Kolloidteilchen und die Porenlosigkeit.
Dieser andersartige Befund kann vermutlich mit der Quellung im Suspensionswasser erklärt werden. Zur Vermeidung der Quellung wurden die Präparate K_8 und K_9 vergleichsweise in Petroläther aufgeschwemmt, wodurch die Gestalt der Teilchen abgerundeter erscheint,die porenähnliche Struktur aber dennoch erhalten blieb (vgl.Abb.7 und 9).

---

* Bestimmung nach Brunauer,Emmett und Teller[87])

4.1.6. Gefällte Kieselsäure K_4

Das Erscheinungsbild dieser gefällten Kieselsäure ist völlig andersartig als das der bisher besprochenen Typen. Es handelt sich hierbei um ein gemahlenes Kieselgel. Dieses Produkt hat eine für gefällte Kieselsäuren nicht typische, besonders große Oberflächenausbildung(BET-Oberfläche von 8oo m^2/g,vgl. Tab. 22).
Auffallend sind die besonders feinen Kolloidteilchen, wie aus Abbildung lo hervorgeht. Diese bilden Aggregate, die im Gegensatz zu den übrigen Siliciumdioxidtypen in der Form nicht dem Flockenmodell von Sutherland entsprechen. Während die Flocken der übrigen SiO_2-Typen entsprechend dem Flockenmodell lockere, offene, unsymmetrische Strukturen aufweisen, sind die bei der Siliciumdioxidtype K_4 vorliegenden Aggregate kompakt,z.Teil polygonal geformt,und die Randpartien sind, wie bei kleinerer Vergrößerung besser sichtbar, im Bild fast kristalloid geradlinig begrenzt.
Die durch Aggregation der besonders kleinen Kolloidteilchen entstehenden Primärkanälchen sind so fein, daß ihr Durchmesser im TEM-Bild nicht mehr zu ermitteln ist.
Auch der mittlere Durchmesser der Sekundärkanäle liegt weit unter dem der anderen Kieselsäuretypen und wird vom Hersteller mit 22 Å angegeben. Im Bild sind Sekundärkanäle andeutungsweise zu erkennen.

4.1.7. Aktivkohle AK_1

Die Aktivkohle AK_1 hat nach eigenen Messungen(vgl. S. 44) eine BET-Oberfläche von 2loo m^2/g(vgl.Tab. 22).
Wie Abbildung ll zeigt, ähnelt ihr morphologischer Aufbau bei dieser Vergrößerung dem des Siliciumdioxid-Präparates K_4(Abb. lo).
Das Porensystem dieser Aktivkohle ist jedoch noch feiner.

4.1.8. Aktivkohle AK_2

Die Aktivkohle AK_2 weist eine für Kohlen sehr kleine BET-Oberfläche von 75 m^2/g auf.

Wie aus Abbildung 12 hervorgeht, ist die geringe Oberflächenausbildung darauf zurückzuführen, daß diese Kohle aus besonders großen Kolloidteilchen(5oo-8oo Å) aufgebaut ist. Diese bilden durch Aneinanderlagerung entsprechend große Poren.

Grundsätzlich ist das morphologische Erscheinungsbild dieser Aktivkohle den gefällten Kieselsäuren(mit Ausnahme der aus dem Rahmen fallenden Kieselsäure K_4) ähnlich. Die vorliegende Aktivkohle AK_2 besteht im Gegensatz zu der Aktivkohle AK_1(DAB Qualität) ebenfalls aus zu einer Flocke aggregierten Kolloidteilchen. Dieser Befund erscheint insofern erstaunlich,als es sich bei Siliciumdioxid und Kohle um zwei chemisch völlig verschiedene Substanzen handelt.

Übereinstimmend mit diesem Befund betonte jedoch Sutherland [92] die Gültigkeit seines Flockenmodelles für zahlreiche Flockungssysteme, unabhängig von ihrer chemischen Natur. So kann z.B. der morphologische Aufbau von Gold-Solen, Kohle und Kieselsäure in Form und Erscheinungsbild der Flocken dem Flockenmodell sehr ähnlich sein [92].

Die vorliegende Kohle AK_2 wurde als Eichsubstanz bei den Oberflächenbestimmungen benutzt.

4.2. Adsorptionsvermögen von verschiedenen Kieselsäuren und Aktivkohlen

Im folgenden soll zuerst das Molekül-, anschließend das Bakterienbindungsvermögen von Siliciumdioxid untersucht werden.

Zum Problemkreis der **Molekülad sorption** sollen folgende **Teilfragen behandelt werden:**

1) Ist die Methylenblauadsorption als DAB - Prüfmethode für das Adsorptionsvermögen eines Adsorbens aussagekräftig in bezug auf die Qualität eines Adsorbens?
Führt die Hämoglobinadsorption zur gleichen Qualitätsbeurteilung?

2) Wird das Ausmaß der Adsorption durch die Dimensionen des Hohlraumsystemes des Adsorbens einerseits und die Molekülgröße des Adsorptives andererseits entscheidend geprägt?

3) Welche Abhängigkeit zeigt die adsorbierte Hämoglobinmenge von der Gleichgewichtskonzentration des Hämoglobins bei konstanter Temperatur?

4) Mit welchem der zahlreichen Adsorptionsmodelle läßt sich der Verlauf der Hämoglobin-Adsorptionsisothermen in Einklang bringen?

5) Sind die Versuchsergebnisse auf die Körpertemperatur von 37°C übertragbar?

6) Ist Siliciumdioxid zur Adsorption von Staphylokokken-Enterotoxin befähigt?

7) Inwieweit sind die an Siliciumdioxid adsorbierten Hämoglobin- und Toxinmoleküle desorbierbar?
Welche Zeit ist zur Einstellung des Desorptionsgleichgewichtes erforderlich?

Der Beantwortung dieser Fragen dienen die folgenden Untersuchungen:

4.2.1. Adsorption von kleinen Molekülen, Beispiel: Methylenblau

Wie bereits erwähnt, werden als Prüfadsorptive für das Adsorptionsvermögen von medizinischen Kohlen noch heute in den Arzneibüchern ausschließlich kleine Moleküle (MG 94 - 640) herangezogen(vgl.S.34).
So wird im DAB für das Adsorptionsvermögen von medizinischer Kohle eine vollständige Entfärbung von 40 ml einer 0.15%igen Methylenblaulösung durch 0.2 g Trockensubstanz nach 5 Minuten kräftigen Schüttelns gefordert.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Methylenblauadsorption, wie in Kapitel 3.2.3.1. bereits beschrieben, geprüft.

Wie aus Tabelle 3 ersichtlich, entfärbte die handelsübliche DAB - Kohle AK_1 die Methylenblaulösung vollständig.
Die Aktivkohle AK_2 dagegen, die eine für Kohlen sehr kleine Oberfläche besitzt, adsorbierte nur 24% und ein Kohlegranulat, das als Arznei gegen Diarrhoe gehandelt wird, 26,5% der vorgelegten Methylenblaumenge.
Die Kieselsäuren verschiedener Struktur adsorbierten zwischen 17 und 42% der vorgelegten Methylenblaumenge und schnitten damit gegenüber der den Anforderungen des DAB genügenden Kohle AK_1 nicht so günstig ab.
Nimmt man nur das kleindimensionierte Methylenblaumolekül als einziges Kriterium zur Beurteilung des Adsorptionsvermögens von Siliciumdioxid, so fällt keine der verschieden strukturierten Kieselsäuren in ihrem Adsorptionsverhalten aus dem Rahmen. Das Adsorptionsvermögen der verschiedenen Siliciumdioxidtypen für Methylenblau liegt bei allen Sorten in etwa der gleichen Größenordnung , gleichgültig ob es sich um eng- oder weitporige Sorten handelt.

Tab.3:

Adsorption von Methylenblau an verschiedene Adsorbentien(pH 5-7)

Adsorbens	Vorgelegte Menge v(mg)	Restmenge r(mg)	Adsorbierte Menge a(mg)	Adsorption in %
Poröse Kiesels.:				
K_1	2o.o	14.o	6.o	3o.o
K_2	2o.o	13.9	6.1	3o.5
K_3	2o.o	11.5	8.5	42.5
K_4	2o.o	13.5	6.5	32.5
K_5	2o.o	11.4	8.6	43.o
K_6	2o.o	16.6	3.4	17.o
K_7	2o.o	11.5	8.5	42.o
Unporöse Kiesels.:				
K_8	2o.o	15.o	5.o	25.o
K_9	2o.o	13.o	7.o	35.o
Aktiv-kohlen:				
AK_1	2o.o	o.o	2o.o	1oo.o
AK_2	2o.o	15.2	4.8	24.o
Kohle-granulat	2o.o	14.7	5.3	26.5

4.2.2. Adsorption von größeren Molekülen; Beispiel: Hämoglobin

Wie bereits erwähnt, eignet sich Hämoglobin auf Grund seiner kugelförmigen Gestalt und seiner Größe (64 Å x 55 Å x 5o Å) gut als Modellsubstanz für die Adsorption größerdimensionierter Moleküle.
Sein Molekulargewicht liegt mit 68ooo in der Größenordnung bekannter Toxine(Staphylokokken-Enterotoxin MG= 29ooo;Cholera-Enterotoxin MG=9oooo). Hämoglobin eignet sich daher ausgezeichnet zur Beurteilung von Adsorbentien im Hinblick auf die Bindungsfähigkeit für derart dimensionierte Moleküle.

Im folgenden wird das Adsorptionsverhalten von Hämoglobin gegenüber verschieden strukturierten porösen und unporösen Kieselsäuren sowie einer Aktivkohle in gepulverter und granulierter Form durch Erstellung der Adsorptionsisothermen untersucht*.
Nach der anschließenden Auswertung des Isothermenverlaufes folgt die Untersuchung des Desorptionsverhaltens.

4.2.2.1. Aufnahme von Adsorptionsisothermen

Bestimmt man nach Einstellung des Adsorptionsgleichgewichtes die Restkonzentration des Adsorptives und kennt somit die adsorbierte Menge, so läßt sich für konstante Temperatur diese adsorbierte Menge als Funktion der Gleichgewichtskonzentration graphisch darstellen.
Eine solche Darstellung bezeichnet man als Adsorptionsisotherme [12].
Die Darstellung von Adsorptionsphänomenen in der Form von Adsorptionsisothermen ist oft ein wertvolles Hilfsmittel, um Aufschluß über die Art der Adsorption zu erhalten.
Man prüft nun , ob der Verlauf solcher Isothermen mit dem theoretischen

---

* Zur Charakterisierung der Adsorbentien vergleiche Tabelle22 und Kapitel 3.1.1.

Verlauf eines der zahlreichen Adsorptionsmodelle in Einklang gebracht werden kann.Damit läßt sich entscheiden, ob das dem betrachteten System zugrundegelegte Modell zutreffend ist.
Die theoretische Grundlage des nach LANGMUIR [94] benannten Modells sind adsorptionskinetische Überlegungen.
Es wird vorausgesetzt, daß die Adsorption in einer Monoschicht erfolgt und die adsorbierten Moleküle sich gegenseitig nicht beeinflussen. Es wird der Gleichgewichtszustand zwischen Hin- und Rückreaktion,d.h. Adsorption und Desorption betrachtet; die bestimmenden Größen für dieses Gleichgewicht sind die Oberflächenbelegung, ein Kondensationskoeffizient, die Aktivierungsenergie für die Adsorption und die Temperatur.
Bei einer LANGMUIR-Adsorptionsisotherme nähert sich bei hohen Gleichgewichtskonzentrationen * die Belegung asymptotisch einem Maximalwert, nämlich der monomolekularen Bedeckung. Diese maximale Belegung ist von der Temperatur selbst unabhängig,wird jedoch mit steigender Temperatur erst bei höheren Gleichgewichtskonzentrationen erreicht.
Die Steigung der LANGMUIR-Adsorptionsisotherme im Bereich kleiner Gleichgewichtskonzentrationen ist ein Maß für die Stärke der Adsorptionskräfte. Mit Zunahme der Temperatur wird die Festigkeit der Bindung naturgemäß geringer.

Das Adsorptionsverhalten eines Adsorbens in definierter Lösung läßt sich nach dem LANGMUIR- Modell durch folgende Abhängigkeit der Oberflächenbelegung des Adsorbens von der Gleichgewichtskonzentration des Adsorptivs beschreiben [94]

$$\frac{x}{x_m} = \frac{b \cdot c}{1 + b \cdot c} \qquad \text{(Glg.1)}$$

mit
c = Gleichgewichtskonzentration als mg Adsorptiv pro ml Lösung
x = Menge des Adsorptes in mg bei zugehöriger Gleichgewichtskonzentration
x_m = maximal adsorbierte Menge in mg
b = LANGMUIR- Koeffizient (ml/mg)

---

*Gleichgewichtskonzentration= Restkonzentration nach Einstellung des Adsorptionsgleichgewichtes

Für kleine Konzentrationen, d.h. für

$$b \cdot c \ll 1$$

folgt aus Glg. 1

$$x \cong x_m \cdot b \cdot c \ ,$$

die LANGMUIRsche Adsorptionsisotherme wird eine Gerade (Grenzfall einer HENRYschen Adsorption).

Für große Konzentrationen, also für

$$b \cdot c \gg 1$$

folgt aus Glg. 1

$$x \cong x_m \ ,$$

die adsorbierte Menge nähert sich asymptotisch dem Maximalwert x_m.

Der Verlauf einer LANGMUIR - Isotherme mit den beiden Grenzfällen ist in Abb. 14 wiedergegeben.

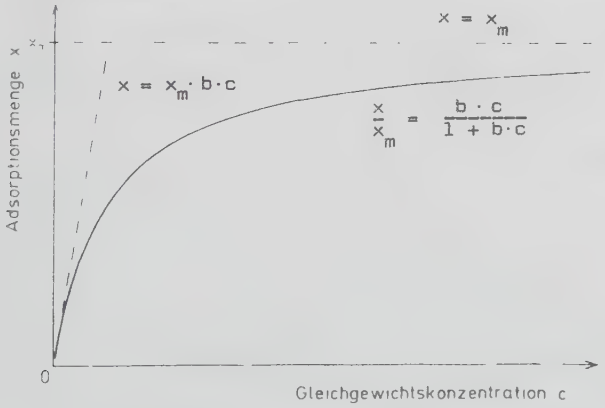


Abb. 14: Verlauf einer LANGMUIR- Adsorptionsisotherme.
Bei kleinen Gleichgewichtskonzentrationen entspricht der Sorptionsverlauf der Geraden $x = x_m \cdot b \cdot c$, bei großen Konzentrationen der Geraden $x = x_m$.

An dieser Stelle sollte hervorgehoben werden, daß sich die folgenden physikalisch- chemischen Messungen im Sinne einer grundsätzlichen Erforschung des Adsorptionsvermögens verschiedener Adsorbentien von der späteren Dosierung in der therapeutischen Anwendung insofern unterscheiden, als daß das A d s o r p t i v im Überschuß vorliegen muß, um das Adsorptionsvermögen und damit die Wirksamkeit des Siliciumdioxids beurteilen zu können, bei der Therapie ist sinnvollerweise von einem Überschuß an A d s o r b e n s auszugehen.

Die Vorbereitung der verschiedenen Adsorbentien, die Herstellung der Adsorptivlösungen und die Versuchsdurchführungen der Adsorptions- bzw. Desorptionsmessungen wurden in Kapitel 3.2. beschrieben.

4.2.2.1.1. Adsorptionsisothermen für poröse Kieselsäuren

Die Adsorptionsisothermen wurden unter den in Kapitel 3.2.3.2. beschriebenen, für alle Adsorbentien gleich eingehaltenen Versuchsbedingungen gemessen.

Die Meßergebnisse des Adsorptionsverhaltens der porösen Kieselsäuren K_1, K_3 und K_4 sind in den Tabellen* 1o,11,12,13 wiedergegeben und die zugehörigen Adsorptionsisothermen in den Abbildungen 15,16 und 19 graphisch dargestellt.

Die Kieselsäuren K_1 und K_3 zeigen eine ausgeprägte, die Kieselsäure K_4 dagegen nur eine minimale Adsorptionswirkung.
Bei den Typen K_1 und K_3 steigt die adsorbierte Hämoglobinmenge schon bei niedrigen Gleichgewichtskonzentrationen stark an und nähert sich asymptotisch einem Maximalwert, der die Sättigung der Oberfläche anzeigt (Sättigungssorption).
Bei K_1 ist die Sättigungssorption mit 51.6 mg Hb/2oo mg K_1(bezogen auf 2o ml Lösung)etwas größer als bei K_3 mit 41.6 mg Hb/2oo mg K_3(bezogen auf 2o ml Lösung).
Die Kieselsäure K_4 zeigt dagegen, wie aus dem sehr flachen Kurvenverlauf hervorgeht, eine minimale Adsorption von Hämoglobin mit einer Sättigungssorption von 1.21 mg Hb/2oo mg K_4 bezogen auf 2o ml Lösung.

In Abb. 16 wird am Beispiel der Kieselsäure K_1 der Temperatureinfluß auf den Adsorptionsverlauf verdeutlicht.
Eine Erhöhung der Temperatur von 2o°C auf 37°C hat einen weniger steilen Anstieg der adsorbierten Menge mit wachsender Gleichgewichtskonzentration zur Folge. Die maximal adsorbierte Menge(Sättigungssorption) liegt bei 2o°C mit 51.6 mg Hb/2oo mg K_1(bezogen auf 2o ml Lösung) etwas höher als bei 37°C mit 46.o mg Hb/2oo mg K_1(bezogen auf 2o ml Lösung).
Es wurde darauf verzichtet, bei den übrigen Adsorbentien Adsorptionsisothermen für 37°C aufzunehmen, da eine Temperatur von 2o°C für die Stabilität der Hämoglobinlösungen günstiger ist.

*Siehe Anhang

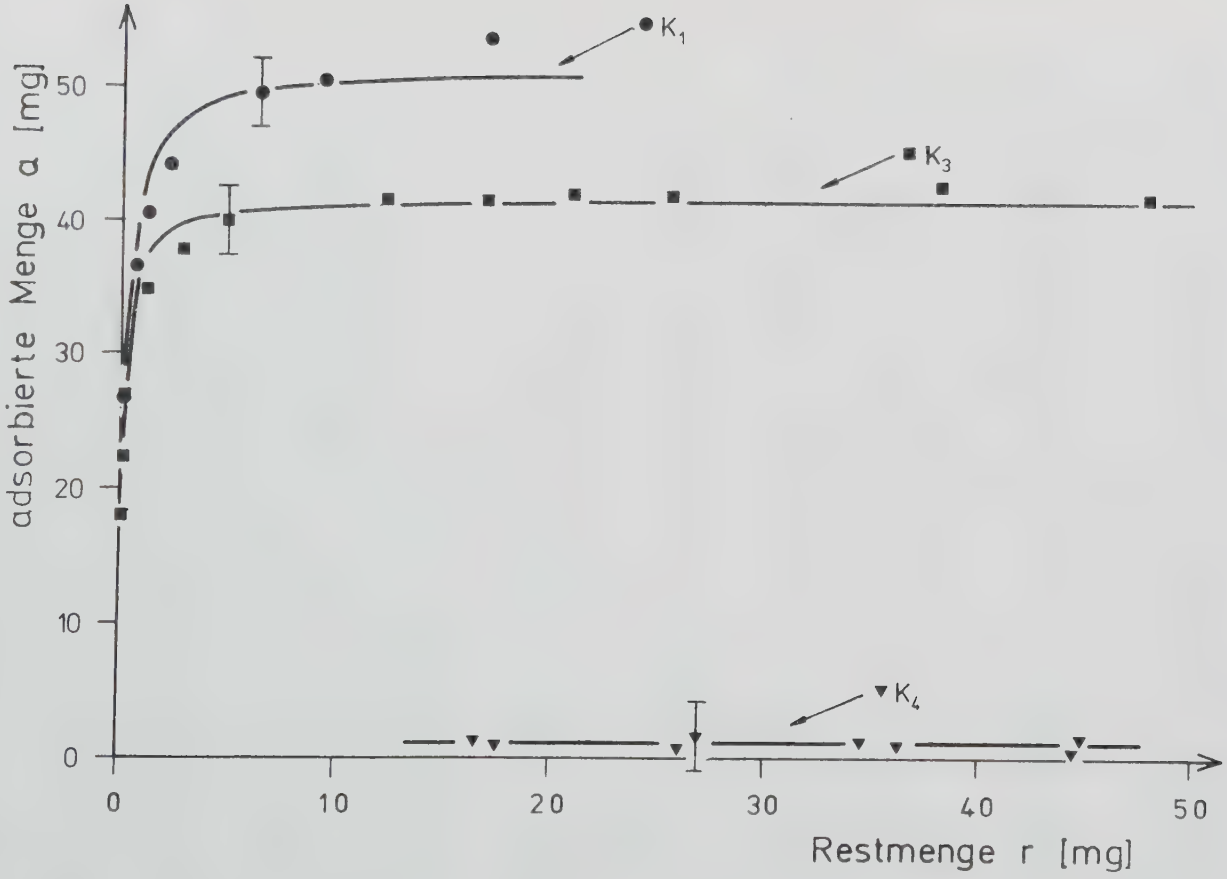


Abb.15: Adsorptionsisothermen von Hämoglobin an die porösen Kieselsäuren K_1,K_3 und K_4 bei 20°C

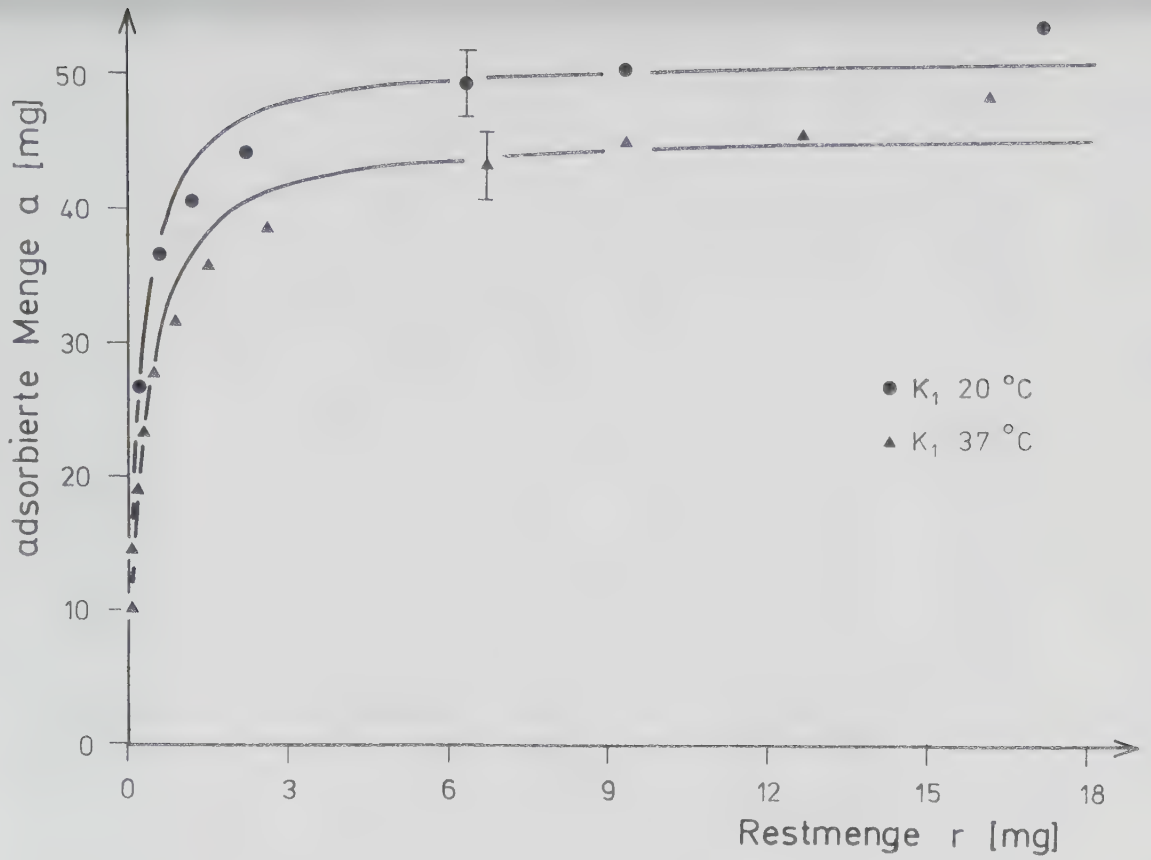


Abb. 16 : Adsorptionsisothermen von Hämoglobin an die poröse Kieselsäure K_1 bei 20°C und 37°C

4.2.2.1.2. Adsorptionsisothermen für unporöse Kieselsäuren

Die Adsorptionsisothermen wurden unter den in Kapitel 3.2.3.2. beschriebenen, für alle Adsorbentien gleich eingehaltenen Versuchsbedingungen gemessen.

Die Meßergebnisse des Adsorptionsverhaltens der unporösen* Kieselsäuren K_8 und K_9 sind in den Tabellen** 14 und 15 wiedergegeben und die zugehörigen Adsorptionsisothermen in den Abbildungen 17 und 19 graphisch dargestellt.

Die Meßpunkte der Adsorptionsisothermen dieser beiden unporösen Kieselsäuren zeigen, wie aus Abb. 17 und den Tabellen14 und 15 ersichtlich, einen von den Adsorptionsisothermen der porösen Kieselsäuren K_1 und K_3 (Abb.15,16) leicht abweichenden Verlauf, was sich in einem weniger steilen Anstieg und einem kontinuierlicheren Übergang in den Sättigungsbereich äußert.
Der theoretische nach LANGMUIR errechnete Verlauf zeigt analog dem Verlauf bei K_1 und K_3(Abb.15,16) kein kontinuierliches, sondern starkes Abbiegen in den Sättigungsbereich.
Der dadurch bedingte Unterschied zwischen dem gemessenen und dem theoretischen Kurvenverlauf zeugt von einer leichten Abweichung des Bindungsmechanismus vom Langmuir- Modell.
Die Sättigungssorption wird dementsprechend erst bei höheren Gleichgewichtskonzentrationen erreicht, liegt aber mit 4o.o mg Hb/2oo mg K_8(bezogen auf 2o ml) und 44.6 mg Hb/2oo mg K_9(bezogen auf 2o ml) in der gleichen Größenordnung wie bei den porösen Typen K_1 und K_3.

---

* In den elektronenmikroskopischen Abbildungen scheinen diese Typen gleichfalls porösen Charakter zu besitzen(vgl. Abb.6,7,8,9).

** Tabellen siehe Anhang

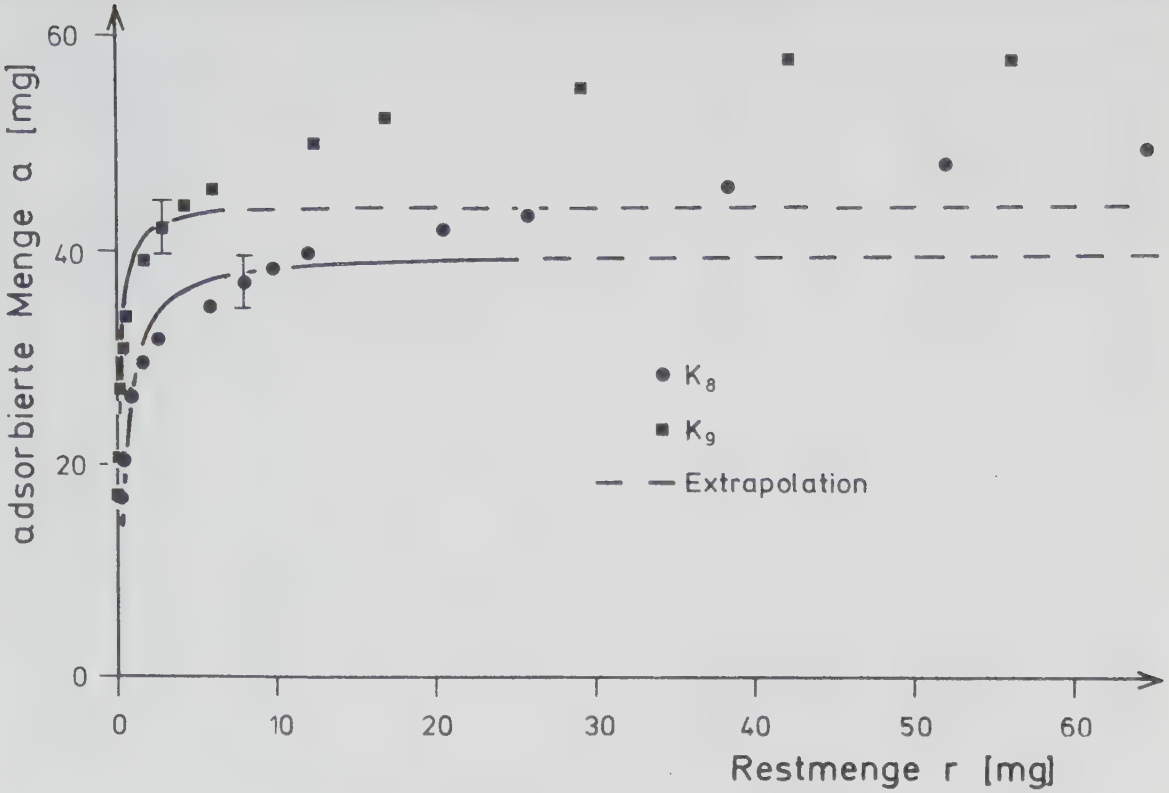


Abb. 17: Adsorptionsisothermen von Hämoglobin an die unporösen Kieselsäuren K_8 und K_9 bei 20°C

4.2.2.1.3. Adsorptionsisothermen für Aktivkohlen

Die Adsorptionsisothermen wurden unter den in Kapitel 3.2.3.2. beschriebenen, für alle Adsorbentien gleich eingehaltenen Versuchsbedingungen gemessen. Dabei zerfiel das Kohlegranulat während der Equilibrationszeit von 2 Stunden nur geringfügig.

Die Meßergebnisse des Adsorptionsverhaltens der porösen Aktivkohle AK_1 und eines Kohlegranulates* sind in den Tabellen** 16 und 17 wiedergegeben und die zugehörigen Adsorptionsisothermen in Abbildung 18*3 graphisch dargestellt.

Die Aktivkohle AK_1 und das Kohlegranulat zeigen, wie aus Abb.18 ersichtlich, nur eine minimale Adsorption.
Die Sättigungsadsorption ist bei AK_1 schon bei 5.83 mg Hb/2oo mg AK_1 (bezogen auf 2o ml), bei dem Kohlegranulat sogar schon bei o.97mg Hb/2oo mg*4 Kohle(bezogen auf 2o ml Lösung) erreicht.

---

* zu einem Granulat verpresste Aktivkohle (vgl. Tab.23)

** siehe Anhang

*3 Beachte: Im Vergleich zu den Abbildungen 15,16 und 17 wurde in Abb.18 für die adsorbierte Menge a(mg) ein anderer Maßstab gewählt.

*4 entsprechend 32o mg Granulat

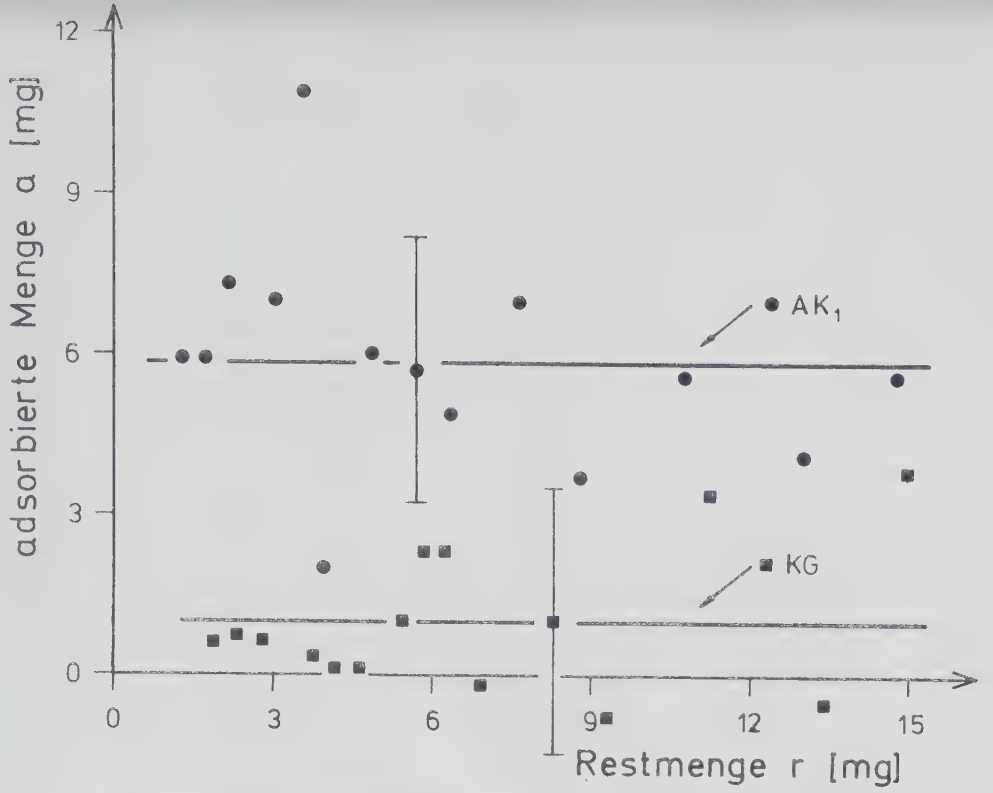


Abb.18: Adsorptionsisothermen von Hämoglobin an die poröse Aktivkohle AK_1 und an das Kohlegranulat KG bei 20°C

4.2.2.2. Fehlerbetrachtung und Auswertung des Adsorptionsverlaufes nach dem LANGMUIR-Modell

Mathematisch läßt sich der Zusammenhang zwischen Oberflächenbelegung und Gleichgewichtskonzentration nach Glg.1 folgendermaßen umformen:

$$\frac{1}{x} = \frac{1}{x_m} + \frac{1}{x_m \cdot b} \cdot \frac{1}{c} \qquad \text{(Glg.2)}$$

Man erhält damit eine lineare Beziehung(Methode der linearen Regression) zwischen den Kehrwerten $\frac{1}{x}$ und $\frac{1}{c}$ der Form

$$Y = A + B \cdot X \qquad \text{(Glg.3)}$$

Diese Gerade kann für die Gesamtheit der experimentell ermittelten a-* und r-*Werte, bzw. Y- und X-Werte berechnet werden, wobei die X-Werte als exakte und die Y-Werte als mit Fehlern behaftete Größen angesehen werden. Für diese optimale Anpassung der Geraden an alle Meßpunkte bedient man sich des GAUSSschen Prinzips der Minimalisierung der Summe aller Fehlerquadrate und erhält diejenige Ausgleichsgerade, die unter Berücksichtigung der Streubreiten aller Meßpunkte gleichmäßig durch diese hindurchgeht[1o5].

Ein ebenfalls berechenbarer Korrelationskoeffizient K gibt die Güte eines solchen Ausgleichs an; bei einem Wert von 0 sind die Meßwerte bezüglich der Geraden völlig statitisch verteilt, bei einem Wert von 1 liegen alle Meßwerte exakt auf der Geraden. Eine lineare Regression mit Ausgleichsrechnung ist also nur dann sinnvoll, bzw. das zugrundegelegte Modell ist anwendbar, wenn der Korrelationskoeffizient in der Nähe von 1 liegt.

Im einfachsten Fall eines linearen Ausgleichs kommt allen Meßpunkten das gleiche Gewicht zu; das ist nur dann erfüllt, wenn alle Y-Werte etwa mit der gleichen Schwankungsbreite vorliegen. Zunächst muß also betrachtet werden, wie groß die jeweiligen Schwankungsbreiten der Y-Werte sind. Bei entsprechenden Vorversuchen hat sich gezeigt, daß die Bestimmung der

---

*a und r vgl. S.49

Restmenge des Adsorptivs mit einem absoluten Fehler von

$$\Delta a = \pm 2.5 \text{ mg}$$

behaftet ist. Dieser Fehler ist der Gesamtfehler der Meßmethode, schließt also präparative Fehler mit ein.

Δ a entspricht der einfachen Standardabweichung σ , d.h. mit einer Wahrscheinlichkeit von 68.3% liegt der wirkliche Wert von a im Bereich $a \pm \Delta a$ (1σ -Regel).

Nach dem Fehlerfortpflanzungsgesetz ergibt sich für den Fehler der Kehrwerts

$$\Delta\left(\frac{1}{a}\right) = \frac{\Delta a}{a^2} \quad , \qquad \text{(Glg.4)}$$

die Bedingung gleicher Schwankungsbreiten ist also für den Kehrwert $\frac{1}{a}$ nicht mehr erfüllt.

Eine korrekte Ausgleichsrechnung muß also unter Wichtung der Meßwerte erfolgen. Meßwerte mit größeren Schwankungsbreiten bekommen dabei ein kleineres Gewicht als die zuverlässigen Werte. Die einzelnen Meßwerte gehen dann so oft in die Ausgleichsrechnung ein, wie es die Verhältniszahl ihres Gewichts zum kleinsten Gewicht bestimmt*.

Das Gewicht p ist gegeben durch

$$p = \frac{1}{\Delta\left(\frac{1}{a}\right)^2}$$

Mit Glg.4 ergibt sich

$$p = \frac{a^4}{\Delta a^2}$$

Das Gewicht p ist demnach für konstantes Δa proportional zu a^4

---

* $I = \frac{p}{p_{min}}$ I = Anzahl der Eingaben in die Ausgleichsrechnung

Diese Wichtung wurde bei der Berechnung der Ausgleichsgeraden für die einzelnen LANGMUIR-Adsorptionsisothermen in einem entsprechend modifizierten Standardprogramm* berücksichtigt.

Mit den Beziehungen

$$x = \frac{a}{2o} \quad \text{und} \quad c = \frac{r}{2o}$$

(x und c bezogen auf 1 ml Lösung) ergibt sich aus Glg. 2

$$\frac{1}{a} = \frac{1}{2o \cdot x_m} + \frac{1}{x_m \cdot b} \cdot \frac{1}{r} \quad . \qquad \text{(Glg.5)}$$

Aus den Konstanten der Ausgleichsgeraden gemäß Glg.3 lassen sich die Maximalmenge des Adsorptes und der LANGMUIR- Koeffizient

$$x_m = \frac{1}{2o\ A}\ ,$$

$$b = \frac{2o\ A}{B}$$

leicht angeben.

In Tab.4 sind die Ergebnisse der Ausgleichsrechnungen für die verschiedenen Adsorbentien zusammengestellt. Die Darstellungen der entsprechenden Geraden finden sich in den Abbildungen 19 und 2o.

---

* Curve fitting, Standardprogramm für Kleinrechner HP 97

Tab. 4 : Adsorption von Hämoglobin an verschiedene Adsorbentien; Ergebnisse der linearen Regression und Ausgleichsrechnung nach dem LANGMUIRschen Adsorptionsmodell

Erläuterungen:

A,B Konstanten der Ausgleichsgeraden

K Korrelationskoeffizient der Ausgleichsrechnung

x_m maximale Adsorptionsmenge in mg pro ml 1 gewichts%iger Lösung

b LANGMUIR Koeffizient

$x_m \cdot b$ Anfangssteigung der Adsorptionsisotherme

	K_1 2o°C	K_1 37°C	K_3 2o°C	K_8 2o°C	K_9 2o°C
A	o.o194	o.o217	o.o24o	o.o25o	o.o225
B	o.oo441	o.oo657	o.oo325	o.o1127	o.oo318
K	o.92	o.92	o.93	o.92	o.93
x_m	2.58	2.3o	2.o8	2.oo	2.23
b	88.1	66.2	147.8	44.3	141.1
$x_m \cdot b$	227	152	3o8	89	314

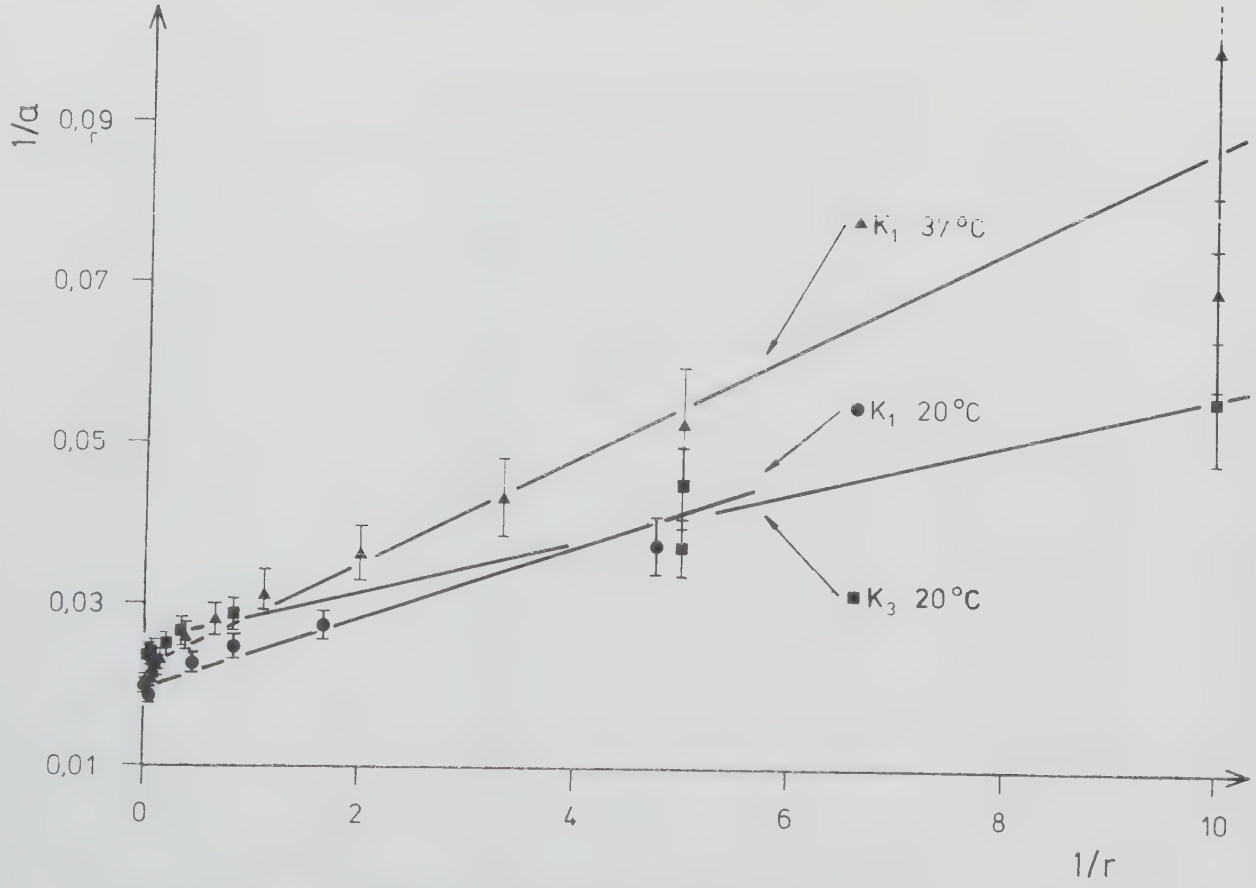


Abb. 19: Lineare Regression für die LANGMUIR-Adsorptionsisothermen von Hämoglobin an K_3 (20°C und 37°C) und K_1 (20°C)

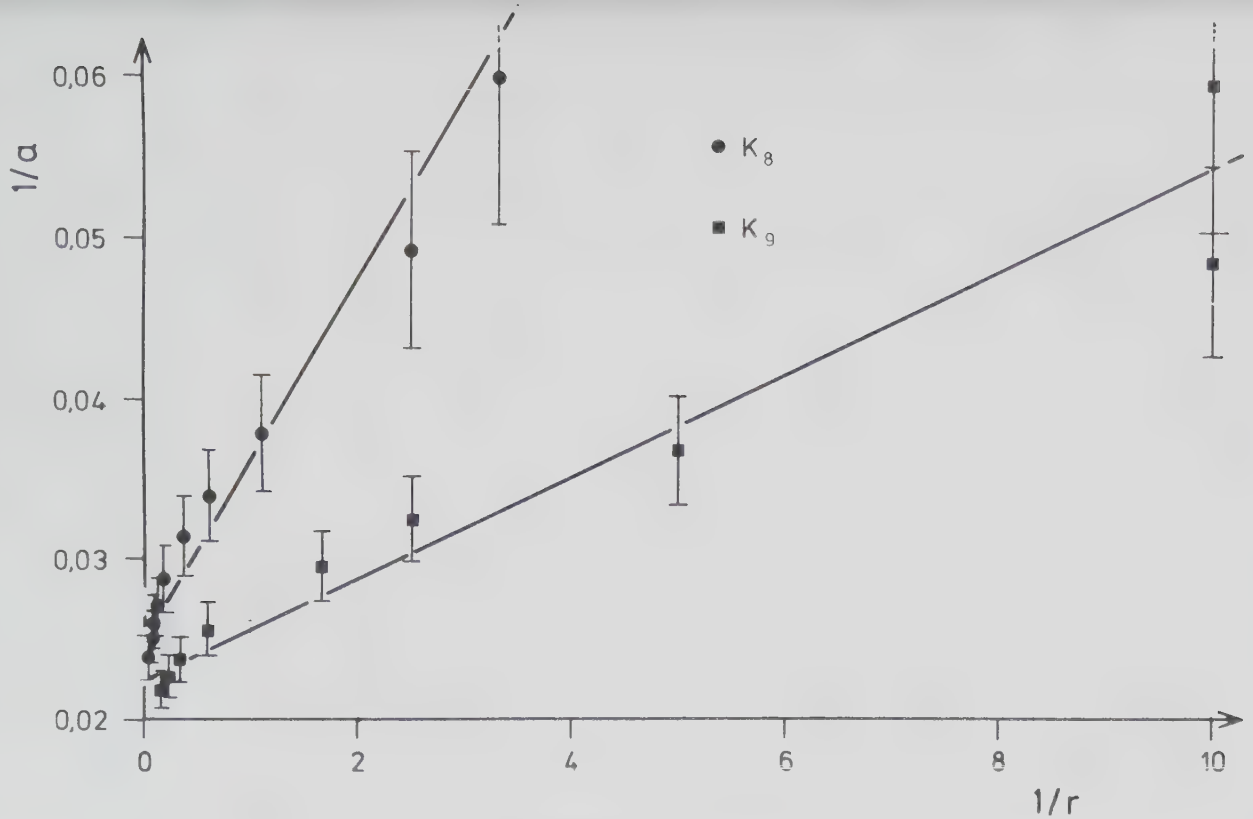


Abb.2o: Lineare Regression für die LANGMUIR- Adsorptionsisothermen von Hämoglobin an K_8 und K_9 (2o°C)

Das Adsorptionsverhalten von Hämoglobin läßt sich für die gefällten porösen Kieselsäuren K_1 und K_3 sowie für die nichtporösen Kieselsäuren K_8 und K_9 durch das LANGMUIR- Modell beschreiben.
Demnach werden die Hämoglobin- Moleküle an der Oberfläche der Kieselsäuren chemisorbiert, bis eine maximale Belegung in Form einer monomolekularen Bedeckung erreicht wird.
Der theoretische Verlauf der LANGMUIR-Isothermen stimmt für die porösen Kieselsäuren besonders gut mit den gemessenen Werten überein(Abb.15,16). Die Meßwerte für die unporösen Kieselsäuren weichen im Bereich höherer Konzentrationen jedoch leicht von den theoretischen Isothermen ab(Abb.17). (Es könnte vermutet werden, daß hier die Adsorption in geringem Maße über eine monomolekulare Bedeckung hinausgeht.)
Die Adsorption von Hämoglobin an die engporige Kieselsäure K_4(Abb.15), die engporige Aktivkohle AK_1 und das Kohlegranulat KG(Abb.18) ist wenig ausgeprägt und läßt sich nicht durch eine LANGMUIR- Isotherme beschreiben.

Der Einfluß der Temperatur auf das Adsorptionsverhalten ist für die Kieselsäure K_1 aus Abb. 16 ersichtlich.Bei 37°C ist der Isothermenanstieg flacher und die erreichte Sättigungssorption etwa um 1o % geringer als bei 2o°C. Ein derartiger Temperatureinfluß ist bei allen nach LANGMUIR beschreibbaren Adsorptionskurven vorhanden.

Vergleicht man das Adsorptionsverhalten der Adsorbentien K_1,K_3, K_8 und K_9 (s.Tab. *) ,so ergibt sich eine vergleichbare maximale Adsorption x_m zwischen 2.oo(K_8) und 2.58(K_1) mg Hämoglobin pro ml 1gewichts%iger Adsorbenssuspension.
Die Steilheit (Anfangssteigung $x_m \cdot b$) der Isothermen bewegt sich in einem wesentlich weiteren Rahmen, nämlich zwischen 89(bei K_8) und 314(bei K_9) (s. Tab. 4).
Der steile Kurventyp beruht nach Wedler[95] auf starken, der flachere Kurventyp auf schwächeren Bindungskräften bei der Chemisorption.

---

* Tabellen siehe Anhang

Die porösen Kieselsäuren K_1 und K_3 und die unporösen Typen K_8 und K_9 stellen also für die Hämoglobinadsorption sehr geeignete Adsorbentien dar. Maximale Adsorption und Bindungskräfte sind bei der Kieselsäure K_8 am kleinsten.Die Kieselsäuren K_3 und K_9 erreichen höhere Adsorptionsmengen, und zwar bereits bei kleineren Gleichgewichtskonzentrationen (starker Bindungstyp).
Die poröse Kieselsäure K_1 schließlich hat bei mittelstarker Chemisorption die größte Adsorptionskapazität.

4.2.2.3. Desorptionsverhalten von Hämoglobin

Unter Desorption versteht man die Dissoziation des Adsorbates in Adsorbens und Adsorptiv:

Adsorbat ⟶ Adsorbens und Adsorptiv

Die zwei folgenden Desorptionsversuche geben Aufschluß
a) über die zur Einstellung des Desorptionsgleichgewichtes erforderliche Z e i t ;
b) über das A u s m a ß der Desorption;

Die beiden Versuche wurden wie in Kapitel 3.2.4.1. und Kapitel 3.2.4.2. beschrieben durchgeführt.

Wie aus Abb.21 und Tab.18 hervorgeht, bleibt das nach 3o Minuten erreichte Desorptionsgleichgewicht auch bei längerer Equilibrationszeit unverändert. Die maximal desorbierte Menge Hämoglobin beträgt in diesem e i n e n Desorptionsschritt 2 mg, d.h. 4% der ursprünglich im Adsorbat gebundenen Hämoglobinmenge.

Der nun folgende Versuch soll über das A u s m a ß der Hämoglobindesorption Aufschluß geben.

Es wurde je ein mit Hämoglobin gesättigtes K_1- Adsorbat in lo Desorptionsschritten mit K_1- gesättigtem, pH_7- gepuffertem Wasser*1 equilibriert. Der Versuch wurde 4-fach, d.h. mit vier gleichen Hb- K_1- Adsorbaten durchgeführt.

---

*1 Vgl. S.54 "Desorptionslösung"

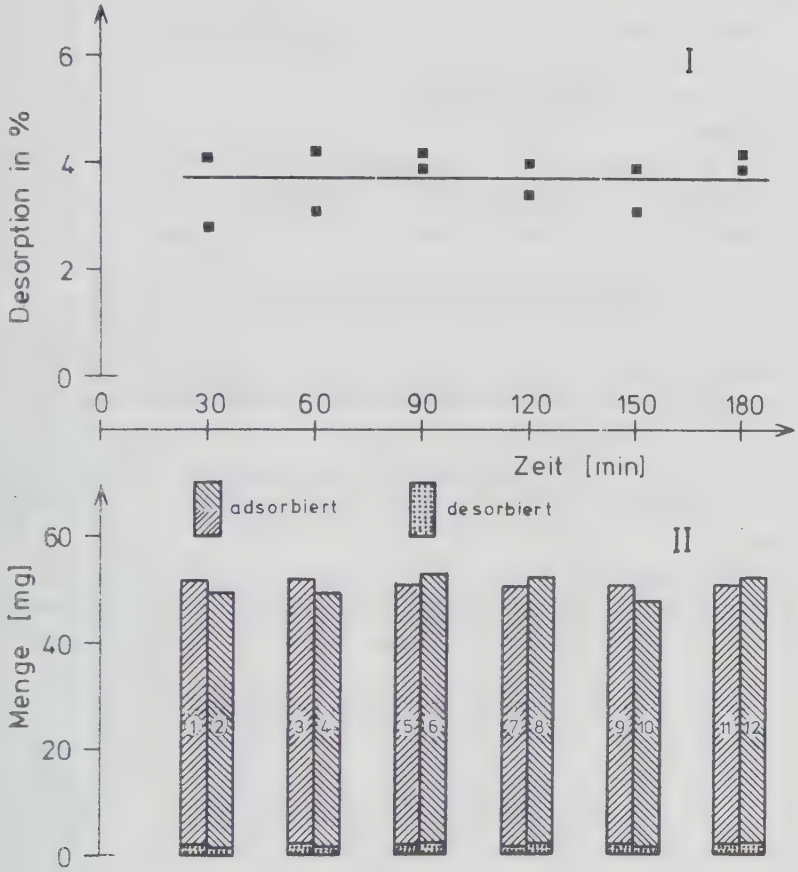


Abb. 21 : Desorption des Hämoglobins von der Kieselsäure K_1 in Abhängigkeit von der Zeit

I Desorbierte Menge Hämoglobin in % der ursprünglich gebundenen Menge

II Ursprünglich adsorbierte und nach verschieden langen Equilibrationszeiten desorbierte Hämoglobin-Mengen für 12 Versuchsansätze

Wie aus Abb.22 und Tab.19 hervorgeht ,wird Hämoglobin bei pH_7 nur in geringem Ausmaße desorbiert.
Nach 1o Desorptionsschritten bleiben noch 85.2 % der ursprünglich adsorbierten Hämoglobinmenge gebunden.
Das Adsorbat bleibt rot- braun gefärbt.
In jedem Desorptionsschritt tritt eine meßbare Desorption ein, da durch das Hämoglobin-freie Waschwasser * das Adsorptionsgleichgewicht in jedem Schritt von neuem gestört wird und sich neu einstellen muß.
Mit zunehmender Zahl der Desorptionsschritte verringert sich jedoch das Ausmaß der Desorption erheblich.
Da das der Desorption unterzogene Hb-gesättigte Adsorbat wegen einer zu befürchtenden Desorption v o r den 1o Desorptionsstufen n i c h t ausgewaschen werden kann, befinden sich zwischen den Adsorbatpartikeln noch versuchsbedingte freie Hämoglobinmoleküle, wodurch der Meßwert der desorbierten Menge im 1.Schritt mit großer Wahrscheinlichkeit zu hoch liegt.
Die gemessene geringe Desorption des Hämoglobins(14.8%) aus den Adsorbaten spricht für eine sehr feste Bindung des Hämoglobins an die Kieselsäureoberfläche.
Durch Eluieren mit Säure[26)] oder durch Extraktion mit hochprozentiger Natriumchloridlösung[32)] ist zwar eine Erhöhung der Desorption zu erwarten, doch würde dies nicht den Verhältnissen im Intestinaltrakt entsprechen.

---

* Vgl.S.54 "Desorptionslösung"

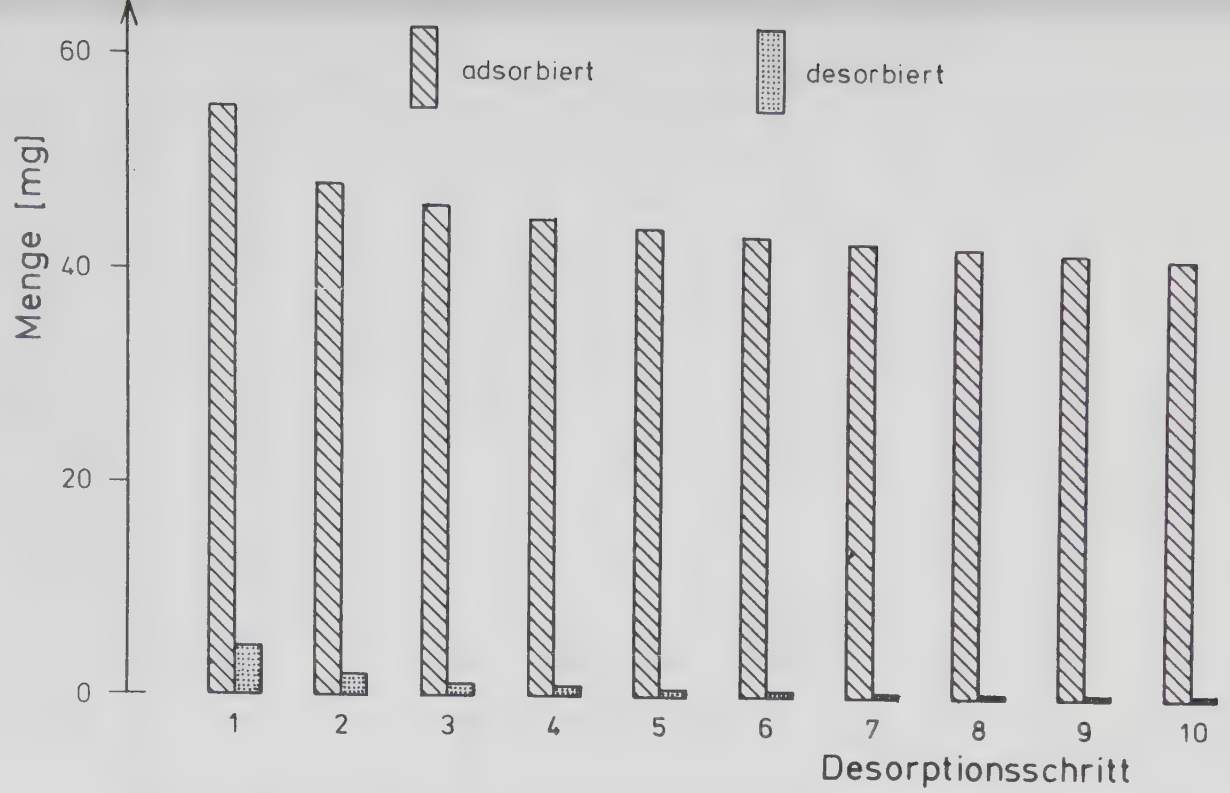


Abb. 22: Desorption des Hämoglobins in lo Desorptionsschritten durch kieselsäuregesättigtes Wasser (Kieselsäure K_1, pH_7 gepuffert, Temperatur 2o°C)

4.2.3. Adsorption von größeren Molekülen; Beispiel: Staphylokokken- Enterotoxin C_1

4.2.3.1. Adsorption an verschiedene Kieselsäuren

Im folgenden muß auf eine Messung von Adsorptionsisothermen - d.h. der Abhängigkeit der adsorbierten Toxinmenge von der Konzentration des Toxins bei gleicher Siliciumdioxidmenge und konstanter Temperatur- verzichtet werden, da der Variation der Toxinkonzentration durch die geringen verfügbaren Toxinmengen(wenige /ug) enge Grenzen gesetzt sind.

Der Versuch wurde wie in Kapitel 3.3.3.3. beschrieben durchgeführt.

Wie aus Tab. 5 hervorgeht, wird Staphylokokken- Enterotoxin C_1 von den weitporigen Kieselsäuren K_3, K_6, K_7 und dem Kieselsäure- Handelspräparat* in e i n e m Adsorptionsschritt zu 44- 48% der vorgelegten Menge (1.5/ug bzw. 2.59/ug) adsorbiert, wobei die adsorbierten Mengen bereits toxische Dosen darstellen.
Weitere Adsorptionsschritte, entsprechend einer mehrmaligen oralen Applikation von Kieselsäure*, könnten die freie Toxinmenge noch erheblich reduzieren.
Eine Desorption des adsorbierten Toxins findet, wie der folgende Versuch zeigt, nicht statt, d.h. das Toxin wird irreversibel an die Kieselsäureoberfläche gebunden.

---

* Entero-Teknosal der Fa. Taco

Tab. 5:

Adsorption von Staphylokokken- Enterotoxin C_1 an verschiedene Kieselsäuren

Versuch	Kieselsäure	Vorgelegte Menge v(/ug)in 2ml Lösung	Restmenge r in % der vorgelegten Menge	Adsorbierte Menge a in % der vorgelegten Menge
I	K_3	1.5	56.	44.
I Blindwert	K_3	o.o	o.	
II	K_6	1.5	52.	48.
II Blindwert	K_6	o.o	o.	
III	K_7	1.5	56.	44.
III Blindwert	K_7	o.o	o.	
IV	Kieselsäure-präparat*	1.5	56.	44.
IV Blindwert	Kieselsäure-präparat	o.o	o.	
V	K_3	2.59	52.	48.
V Blindwert	K_3	o.o	o.	

Versuchsanordnung:

Versuch I:
1.5/ug Toxin + 2o.o mg Kieselsäure K_3 in 2ml o.9%iger Natriumchloridlösung
Versuch I Blindwert:
2o.o mg Kieselsäure K_3 in 2ml o.9 %iger Natriumchloridlösung

Versuch II:
1.5/ug Toxin + 2o.o mg Kieselsäure K_6 in 2ml o.9%iger Natriumchloridlösung
Versuch II Blindwert:
2o.o mg Kieselsäure K_6 in 2 ml o.9%iger Natriumchloridlösung

Versuch III:
1.5 /ug Toxin + 2o.o mg Kieselsäure K_7 in 2ml o.9%iger Natriumchloridlösung
Versuch III Blindwert:
2o.o mg Kieselsäure K_7 in 2ml o.9%iger Natriumchloridlösung

Versuch IV:
1.5 /ug Toxin + 25.3 mg Kieselsäurepräparat in 2ml o.9%iger Natriumchloridlösung
Versuch IV Blindwert:
25.3 mg Kieselsäurepräparat in 2ml o.9%iger Natriumchloridlösung

Versuch V:
2.59 /ug Toxin + 2o.o mg Kieselsäure K_3 in 2ml o.9%iger Natriumchloridlösung
Versuch V Blindwert:
2o.o mg Kieselsäure K_3 in 2ml o.9%iger Natriumchloridlösung

Beachte: Bei Versuch V wurde eine größere Toxinmenge(2.59/ug in 2 ml Lösung)vorgelegt.

* Entero-Teknosal(Fa.Taco)

4.2.3.2. Desorption

Die Toxin-Adsorbate der Versuche I-IV (vgl. Tab. 5) wurden in 1o Desorptionsschritten *1 mit je 5 ml physiologischer Kochsalzlösung 6o Min. bei 2o°C equilibriert.
Es trat, wie aus Tabelle 6 ersichtlich, keine meßbare Desorption ein.

Tab.6:

Desorption von Staphylokokken- Enterotoxin C_1 von verschiedenen Kieselsäuren in 1o Eluationsschritten

	Adsorbat	K_3+Toxin	K_6+Toxin	K_7+Toxin	Handelspräparat*2 +Toxin
1.Desorptionsschritt	desorbierte Toxin-Menge (E) *3	-o.oo3 *4	-o.oo5	-o.oo1	o.ooo
2.Desorptionsschritt	desorbierte Toxin-Menge (E)	o.ooo	-o.oo4	+o.oo8	+o.oo3
3.Desorptionsschritt	desorbierte Toxin-Menge (E)	-o.oo2	-o.oo3	+.o.oo2	+o.oo1

u.s.w. bis 1o. Desorptionsschritt

---

*1 Zur Durchführung einer Desorption in 1o Schritten vgl. S. 54

*2 Entero-Teknosal der Fa. Taco

*3 (E) = Extinktion bei der photometrischen Bestimmung

*4 Die negativen Werte sind durch die Streubreite der Meßwerte bedingt.

4.2.4. Adsorption von Bakterienzellen; Beispiel: Escherichia coli

Die Adsorption von Bakterien stellt insofern eine Besonderheit dar, als es sich um die Adsorption von organisch geformtem, lebenden Material handelt, also nicht, wie bisher beschrieben, von chemisch definierten Molekülen.

Zum Problemkreis der B a k t e r i e n a d s o r p t i o n sollen hier folgende vier T e i l f r a g e n behandelt werden:

1) Ist Siliciumdioxid in ausgeprägtem Maße zur Bakterien- Adsorption befähigt, obwohl auf Grund der Größe eines Bakteriums(5 /um- o.2 /um) ein Eindringen in das enge Hohlraumsystem (maximaler mittlerer Porendurchmesser 18o Å*, vgl. Tab. 22) nicht mehr vorstellbar ist?

2) Wird das Ausmaß der Adsorption durch die Porenstruktur des Adsorbens entscheidend geprägt, wie es bei der Moleküladsorption der Fall ist?

3) Unterliegt die Adsorption von Bakterien, also von relativ großen lebenden Korpuskeln, den gleichen Gesetzmäßigkeiten wie die Moleküladsorption und besteht eine den Molekül-Adsorptionsisothermen analoge Abhängigkeit zwischen Gleichgewichtskonzentration und adsorbierter Menge?

4) Durch welchen Mechanismus können die bei der Bakterienbindung beobachteten Phänomene erklärt werden?

Der Beantwortung dieser Fragen dienen die folgenden Untersuchungen:

---

* 1 /um = 1o ooo Å

4.2.4.1. Makroskopisch und lichtmikroskopisch zu beobachtende Phänomene

Makroskopisch zu beobachtende Phänomene

Schüttelt man Hämoglobin- oder Methylenblaulösungen mit einer kleinen Menge eines geeigneten Adsorbens und trennt das Adsorbat durch Zentrifugieren ab, so zeigt sich eine Entfärbung der Farbstofflösungen, während der Rückstand(= Adsorbat) durch Adsorption der Farbstoffmoleküle stark rot- braun bzw. blau gefärbt erscheint.
Bei Bakterienaufschwemmungen wird der Adsorptionseffekt makroskopisch nach Abtrennung des Adsorbates durch eine Klärung der vorher getrübten Aufschwemmung sichtbar.
Weiterhin ist sofort nach dem Schütteln der Adsorbentien mit der Bakterienaufschwemmung eine Bildung von makroskopisch sichtbaren Flocken auffallend, die im Vergleich zu den Partikeln reiner Adsorbenssuspensionen relativ rasch sedimentieren.
Erst die Flockenbildung ermöglicht die bei Moleküladsorbaten nicht mögliche Abtrennung der Adsorbate durch Papierfilter bzw. durch Sedimentation in kurzen Zeiträumen.

Im Lichtmikroskop zu beobachtende Phänomene

Im Gegensatz zu den Moleküladsorptiven Methylenblau, Hämoglobin und Staphylokokken-Enterotoxin bietet das Bakteriumadsorptiv den Vorteil, daß man es aufgrund seiner Größe schon im Lichtmikroskop abbilden und seine Wechselwirkung mit dem Adsorbens verfolgen kann.
Die zunächst angefertigten gefärbten Präparate* zeigten eine Anreicherung der Bakterien in größeren Kieselsäureaggregaten und ein beinahe vollständiges Fehlen in Siliciumdioxid-freien Bereichen.
Durch den Eintrocknungseffekt konnte es sich dabei um Artefakte handeln, so daß nach besseren Darstellungsmöglichkeiten gesucht wurde.

---

* mit Fuchsin gefärbte, fixierte Präparate

Phasenkontrastmikroskopie

Geeigneter für die Sichtbarmachung der Bakterium-Siliciumdioxid- Wechselwirkung erwies sich die Phasenkontrastmikroskopie.
Die Untersuchung wurde so durchgeführt, daß sich die Bakterien mit dem Siliciumdioxid in einem ausreichenden Flüssigkeitsvolumen befanden und in lebendigem, bewegtem Zustand beobachtet werden konnten.
Dazu wurde das zu untersuchende Material als Suspension auf einen Objektträger zwischen zwei Deckgläschen gegeben und mit einem weiteren Deckgläschen überdeckt, so daß auch eine Betrachtung mit Ölimmersion möglich war.

In reiner Kieselsäuresuspension *1 waren homogen verteilte Siliciumdioxidpartikel zu sehen, bei denen es sich, wie nur im Elektronenmikroskop erkennbar (vgl. Kapitel 4.1.), um Aggregate aus noch kleineren Partikeln handelt.

Auch Präparate reiner Bakterienaufschwemmungen *2 zeigten eine homogene Verteilung der beweglichen Stäbchen.

Gab man nun zu der homogen verteilten Siliciumdioxidsuspension seitlich einer Tropfen der Bakterienaufschwemmung hinzu, so wanderten die Bakterien zu den Kieselsäureteilchen.
In der ersten Sekunden sahen es, als würden die beweglichen, stäbchenförmigen Bakterien nicht an den Kieselsäurepartikeln haften bleiben, ja sich sogar durch aktive Eigenbewegung wieder freimachen.
Nach etwa 15 Minuten jedoch bot sich ein vollständig verändertes Bild.
Die Siliciumdioxidpartikel hatten sich mit den Bakterien zu dreidimensionalen Aggregaten zusammengelagert.
Sie bilden zusammen flockige Gebilde, die sich auch bei Drücken und Bewegen des Deckglases nicht mehr zerstören lassen und sehr fest erscheinen. Die Bakterien sind als Bestandteile dieser Aggregate zwischen oder

*1 Siliciumdioxid in o.9%iger Kochsalzlösung

*2 Escherichia coli (Stamm W_{3110}) in o.9%iger Kochsalzlösung

an den Kieselsäurepartikeln fest fixiert und haben zum Teil eine Vorzugsrichtung parallel zueinander eingenommen.
Die Bereiche außerhalb dieser festen flockigen Gebilde erscheinen weitgehend bakterienfrei.

Die photographische, lichtmikroskopische Abbildung dieser Flocken ist durch den dreidimensionalen Aufbau sehr erschwert und man erhält nur durch ständiges Focussieren eine Vorstellung der Lokalisation der Bakterien zwischen und an den Kieselsäurepartikeln.
Weiterhin sind die Bakterienstäbchen und die Siliciumdioxidpartikel in der photographischen Abbildung nicht leicht zu unterscheiden.
Eine Anfärbung mit Methylenblau erleichterte zwar die Differenzierung der Flockenbestandteile, aber diese Färbemethode ist noch nicht optimal, da sie Bakterien- und Siliciumdioxidpartikel gleichermaßen anfärbt.
Ein getrenntes Anfärben der Siliciumdioxidpartikel und der Bakterienzellen gelang nicht, da die Bakterien nur durch basische Farbstoffe, das Siliciumdioxid aber ebenfalls als Kationenaustauscher nur durch diese kationischen Farbstoffe optimal anfärbbar ist.
Deshalb wird auf die Wiedergabe vorhandener Fotos verzichtet und der Aufbau dieser Flocken zeichnerisch verdeutlicht(vgl.Abb.24 und 25 , S.149).

Zur quantitativen Abklärung des Adsorptionseffektes wurden die folgenden Versuche durchgeführt.

4.2.4.2. Adsorption an die poröse Kieselsäure K_1

Der Versuch wurde wie in Kapitel 3.3.3.4. beschrieben durchgeführt. Wie aus Tab. 7 hervorgeht, wird das Bakterium Escherichia coli in beträchtlichem Ausmaß an die Kieselsäure K_1 adsorbiert. Die adsorbierte Keimzahl liegt zwischen 99 und loo % der vorgelegten Keimzahl.

Tab. 7:
Adsorption von Escherichia coli (W 3llo) an die poröse Kieselsäure K_1

Versuchsbedingungen: Menge Adsorbens: 15o mg K_1
Milieu: physiologische Kochsalzlösung
Inkubationszeit: 2 Stunden
Temperatur: Zimmertemperatur

vorgelegte Anzahl* Keime E.coli in 5ml Aufschwemmung	Restkeimzahl E.coli in 5ml Aufschwemmung	Adsorbierte Anzahl Keime	Adsorption in % der vorgelegten Anzahl Keime
$3.o8 \times lo^8$	$1.22 \times lo^6$	$3.o7 \times lo^8$	99.6
$3.24 \times lo^7$	$2.225 \times lo^5$	$3.215 \times lo^7$	99.2
$1.935 \times lo^6$	$5.35 \times lo^3$	$1.93 \times lo^6$	99.7
$2.o35 \times lo^5$	$2.5 \times lo^2$	$2.o3 \times lo^5$	99.8
$2.o85 \times lo^4$	o.	$2.o85 \times lo^4$	loo.o

* Die Keimzahl wurde aus dem Filtrat ermittelt. Vorgelegt wurde jedoch die unfiltrierte Aufschwemmung(vgl. S.52 "Filtereinfluß").

Alle angegebenen Keimzahlen sind Mittelwerte aus je 6 Versuchsansätzen.

4.2.4.3. Adsorption an verschiedene andere Adsorbentien

Um die Größe des Einflusses der Natur und besonders der Porenstruktur des Adsorbens auf den Adsorptionseffekt von Escherichia coli- Zellen abzuklären, wurden mehrere verschieden poröse und unporöse Kieselsäuren sowie Aktivkohle mit Escherichia coli-Zellen inkubiert.
Es wurden die gleichen, bereits in Kapitel 3.3.3.4. beschriebenen Versuchsbedingungen eingehalten.

Die in Kapitel 4.2.2.beschriebene Adsorption von Hämoglobin führte zu dem Ergebnis, daß das Verhältnis des Porendurchmessers des Adsorbens zum Moleküldurchmesser des Adsorptives entscheidend für das Ausmaß der Adsorption ist.
Die Zugänglichkeit der "Inneren Oberfläche" war Voraussetzung für eine ausgeprägte Adsorption.
Ganz anders verhalten sich Bakterienzellen.
Sie werden in erheblichem Ausmaß gebunden, obwohl die Voraussetzung des Eindringens in das Hohlraumsystem der Adsorbentien aus sterischen Gründen gar nicht gegeben ist.
Auch zeigen sich, wie aus Tabelle 8 hervorgeht, und in Übereinstimmung mit anderen Autoren [49,96,51] k a u m q u a n t i t a t i v e Unterschiede im Ausmaß der Adsorption der Bakterienzellen unterschiedlicher Natur. Die adsorbierte Keimzahl liegt bei a l l e n untersuchten , verschieden porösen und unporösen Adsorbentien zwischen 99 und loo%* der vorgelegten Keimzahl.
Die engporige Kieselsäure K_4 und die engporige Aktivkohle AK_1 sind im Gegensatz zur Hämoglobin-Adsorption genauso befähigt, die Bakterien-Zellen zu binden wie die weitporigen bzw. unporösen Kieselsäuretypen.
Dieses Phänomen spricht für einen noch zu diskutierenden,von der Moleküladsorption verschiedenen Bindungsmechanismus der Bakterienzellen (vgl. Kapitel 5.1.).

---

* Ähnlich hohe Prozentzahlen für die Bakterienadsorption fanden Gunnison und Marshall [96], Chudiakow [50] sowie Eisenberg [49]. Letzterer vermochte mit einer Menge von nur 9 mg Kieselgur über 99% der Keime einer bestimmten Staphylokokkenaufschwemmung zu binden.

Tab. 8:

Adsorption von Escherichia coli an verschiedene andere Adsorbentien

Versuchsbedingungen: Menge Adsorbens: 150 mg
Milieu: physiologische Kochsalzlösung
Inkubationszeit: 2 Stunden
Temperatur: Zimmertemperatur

Adsorbens	Vorgelegte Anzahl* Keime in 5 ml Aufschwemmung	Restkeimzahl in 5 ml Aufschwemmung	Adsorbierte Anzahl Keime	Adsorption in % der vorgelegten Anzahl Keime
K_1	1.58×10^7	0	1.58×10^7	100.0
K_3	1.58×10^7	1.2×10^4	1.578×10^7	99.9
K_4	1.58×10^7	1.375×10^5	1.566×10^7	99.1
K_7	1.58×10^7	4.25×10^4	1.575×10^7	99.7
K_8	1.58×10^7	1.5×10^3	1.579×10^7	99.9
K_9	1.58×10^7	6.5×10^3	1.579×10^7	99.9
AK_1	1.58×10^7	0	1.58×10^7	100.0

* Die Keimzahl wurde aus dem Filtrat ermittelt. Vorgelegt wurde jedoch die unfiltrierte Aufschwemmung(vgl. "FiltereinfluB" S.52).

Alle angegebenen Keimzahlen sind Mittelwerte aus 4 Versuchsansätzen.

4.2.4.4. Aufnahme einer Adsorptionsisotherme für die poröse Kieselsäure K_1

Die Messung von "Bakterien- Adsorptionsisothermen" in Analogie zu den üblichen Molekül- Adsorptionsisothermen(vgl.Kapitel 4.2.2.1.)ist in der Literatur wahrscheinlich aufgrund der meist rein bakteriologisch ausgerichteten Fragestellungen bisher nicht beschrieben worden.
Die Autoren begnügen sich meist mit wenigen Keimzahlabstufungen im Verhältnis 1:1o.
Die Messung einer solchen "Bakterien- Adsorptionsisotherme" ist im Vergleich zur Messung von Molekül- Adsorptionsisothermen mit größeren experimentellen Schwierigkeiten verbunden, da sich die Bakterien auch während der Versuchszeit vermehren.
Die Messung von Isothermen erfordert die Herstellung zahlreicher, verschiedener Adsorptivkonzentrationen , d.h. im Falle von Bakterienadsorptiven die Herstellung zahlreicher Bakterienaufschwemmungen mit Keimzahlen über einen möglichst großen Keimzahlbereich, wobei die Keimzahlabstufungen zwischen den einzelnen Bakterienaufschwemmungen möglichst gering sein müssen.
Wegen der Vermehrung der Keime war jedoch eine ausreichend feine Keimzahlabstufung nur dann zu erreichen, wenn die benötigten Bakterienaufschwemmungen nicht alle gleichzeitig, sondern einzeln erst kurz vor dem Versetzen mit dem Adsorbens hergestellt wurden.
Die Herstellung erfolgte aus einer hochkonzentrierten Bakterienaufschwemmung * durch Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung in einem vorher berechneten, jeweils unterschiedlichen Verhältnis.
Die Equilibrationszeit mit dem Adsorbens mußte zur Reduzierung von Meßfehlern durch Vermehrung der Keime möglichst kurz sein und wurde auf 15 Minuten begrenzt. Diese Equilibrationszeit erschien in Überein -

*Zur Herstellung einer hochkonzentrierten Bakterienaufschwemmung wurden 2ooo ml einer 24- Stunden- Bouillon-Kultur zentrifugiert, der Rückstand mehrmals mit physiologischer Kochsalzlösung ausgewaschen und der gewaschene Bakterienrückstand mit looml physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt.

stimmung mit Gunnison und Marshall [96] und Müller und Hickisch [51], die den Adsorptionsvorgang von Bakterien nach wenigen Minuten als beendet ansehen, ausreichend.
Die Versuchsdurchführungen und die Berechnungen erfolgten weitgehend wie in Kapitel 3.3.3.4. beschrieben.
Nur wurde die Adsorbensmenge*1 von 15o mg auf 15 mg, die Equilibrationszeit von 12o Minuten auf 15 Minuten reduziert und die Temperatur im Thermostaten konstant gehalten.

Der Versuch wurde folgendermaßen durchgeführt:
Je 15 mg*2 sterilisiertes Siliciumdioxid K_1 wurde mit jeweils 5 ml *3 einer Bakterienaufschwemmung unterschiedlichen Keimgehaltes unter leichtem Schütteln 15 Minuten equilibriert und das Adsorbat durch Filtration durch ein steriles Papierfilter abgetrennt.
Die Restkeimzahl wurde,wie in Kapitel 3.3.3.4. beschrieben , ausgezählt und die adsorbierte Keimzahl daraus berechnet.

Die Meßergebnisse des Adsorptionsverhaltens der porösen Kieselsäure K_1 gegenüber dem Bakterium Escherichia coli sind in Tabelle 9 wiedergegeben und die zugehörige Adsorptionsisotherme in Abb. 23 graphisch dargestellt.

---

*1 Die Messung von Adsorptionsisothermen erfordert k l e i n e Adsorbensmengen im Verhältnis zu den z.T. hohen Adsorptivkonzentrationen.

*2 u.*3 Beachte: Die in Tab.9 und in Abb.23 angegebenen Keimzahlen und dazugehörigen Logarithmen beziehen sich auf ein Volumen von 1ml und damit auf eine Adsorbensmenge von nur 3 mg Siliciumdioxid K_1.

Die gemessene Bakterien- Adsorptionsisotherme(vgl. Tab.9) zeigt bei Auftragung der dekadischen Logarithmen der Keimzahlen (Abb.23) im Bereich niedriger Gleichgewichtskeimzahlen* ($1o$ bis $5 \times 1o^6$) eine konstant steigende lineare Abhängigkeit der adsorbierten Keimzahl von der Gleichgewichtskeimzahl. Dieser Bereich läßt sich, wie im folgenden Kapitel 4.2.4.5. beschrieben, durch eine bisher nur für Moleküle definierte FREUNDLICHsche Adsorptionsisotherme[97] sehr gut wiedergeben**.
Im Bereich höherer Gleichgewichtskeimzahlen ($5 \times 1o^6$ bis $9 \times 1o^8$) liegen die Meßwerte unterhalb der Geraden. Das bedeutet, daß die FREUNDLICH - Adsorptionsisotherme für diesen Bereich zu gelten aufhört.
Wie aus Tab.9 hervorgeht, ist die maximale Aufnahmekapazität von 3 mg der Kieselsäure K_1 mit $5.42 \times 1o^9$ gebundenen Keimen noch nicht erreicht. Das Phänomen des Nichterreichens der Sättigungssorption findet in der in Kapitel 5.1. beschriebenen Dehnbarkeit des Adsorptionshohlraumes durch Verlängerung der Brückenglieder eine Erklärung.

---

* Restkeimzahl nach Einstellung des Adsorptionsgleichgewichtes

** A.Hofmann[26] konnte die Adsorption von Alkaloiden an Siliciumdioxid ebenfalls durch FREUNDLICHsche Adsorptionsisothermen beschreiben.

Tab.9:

Adsorption von Escherichia coli an die poröse Kieselsäure K_1 bei 25°C.

Abhängigkeit der adsorbierten Keimzahl von der Gleichgewichtskeimzahl.

"Bakterien-Adsorptionsisotherme"

Versuchsbedingungen: Menge Adsorbens:3mg
Volumen: 1 ml
Milieu:physiologische Kochsalzlösung
Inkubationszeit:15 Minuten
Temperatur: 25°C

1 vorgelegte Anzahl* Keime E.coli in 1 ml Aufschwemmung	2 Restkeimzahl E.coli in 1ml Aufschwemmung	3 log der Restkeim-zahl	4 adsorbierte Anzahl Keime E.coli	5 log der adsor-bierten Keime	6 Adsorption in % der vorgelegten Anzahl Keime
6.34×10^9	9.21×10^8	8.96	5.42×10^9	9.734	85.5
	1.06×10^9	9.025	5.28×10^9	9.723	83.3
4.16×10^9	1.71×10^9	9.233	2.45×10^9	9.39	58.9
3.91×10^9	1.46×10^9	9.16	2.45×10^9	9.39	62.7
3.05×10^9	1.39×10^9	9.143	1.66×10^9	9.22	54.4
3.12×10^9	0.8×10^9	8.9	2.32×10^9	9.365	74.4
	0.66×10^9	8.82	2.46×10^9	9.39	78.9
3.12×10^9	0.22×10^9	8.34	2.9×10^9	9.46	90.6
	0.16×10^9	8.2	2.96×10^9	9.47	94.9
1.29×10^9	0.177×10^9	8.247	1.113×10^9	9.05	86.3
	0.11×10^9	8.04	1.18×10^9	9.07	91.5
4.03×10^8	0.37×10^8	7.57	3.66×10^8	8.56	90.8
3.3×10^8	0.3×10^8	7.48	3.0×10^8	8.48	90.9
2.87×10^8	2.1×10^6	6.32	2.849×10^8	8.455	99.3
2.31×10^8	0.26×10^8	7.41	2.05×10^8	8.31	88.7
2.02×10^8	0.15×10^8	7.18	1.87×10^8	8.27	92.5
1.17×10^8	4.86×10^6	5.93	1.12×10^8	8.05	95.7
1.09×10^8	5.09×10^6	4.95	1.04×10^8	8.02	95.4
6.24×10^7	3.84×10^5	5.58	6.2×10^7	7.8	99.4
	5.0×10^5	6.99	6.19×10^7	7.8	99.2
4.9×10^7	9.0×10^5	5.95	4.81×10^7	7.68	98.2
4.13×10^7	4.0×10^5	5.6	4.09×10^7	7.6	99.0
3.51×10^7	5.4×10^5	5.73	3.456×10^7	7.54	98.5
3.33×10^7	4.7×10^5	5.67	3.28×10^7	7.52	98.5
2.22×10^7	4.1×10^5	5.61	2.179×10^7	7.34	98.2

Fortsetzung Tab.9

1	2	3	4	5	6
2.51×10^7	2.54×10^5	5.4	2.485×10^7	7.4	98.9
7.8×10^6	4.43×10^4	4.646	7.756×10^6	6.89	99.4
6.61×10^6	4.8×10^4	4.68	6.56×10^6	6.82	99.2
	3.8×10^4	4.58	6.57×10^6	6.82	99.4
6.04×10^6	1.12×10^5	5.05	5.93×10^6	6.77	98.2
3.03×10^6	3.25×10^4	4.51	2.99×10^6	6.48	98.9
1.69×10^6	1.3×10^4	4.114	1.677×10^6	6.22	99.2
5.5×10^5	5.8×10^3	3.76	5.4×10^5	5.73	98.2
5.3×10^5	5.87×10^3	3.77	5.24×10^5	5.72	98.9
1.35×10^5	3.47×10^3	3.54	1.315×10^5	5.12	97.4
1.24×10^5	9.0×10^2	2.95	1.23×10^5	5.09	99.2
5.3×10^4	6.3×10^2	2.8	5.267×10^4	4.72	99.4
2.34×10^4	1.7×10^2	2.23	2.323×10^4	4.366	99.3
8.0×10^3	2×10	1.3	7.98×10^3	3.9	99.75
7.6×10^3	6×10	1.78	7.54×10^3	3.88	99.2
1.42×10^3	1(0)	0	1.42×10^3	3.15	100.
1.4×10^3	1×10	1.0	1.38×10^3	3.14	99.3

*Die Keimzahl wurde aus dem Filtrat ermittelt.Vorgelegt wurde jedoch die unfiltrierte Aufschwemmung(vgl.S.52)

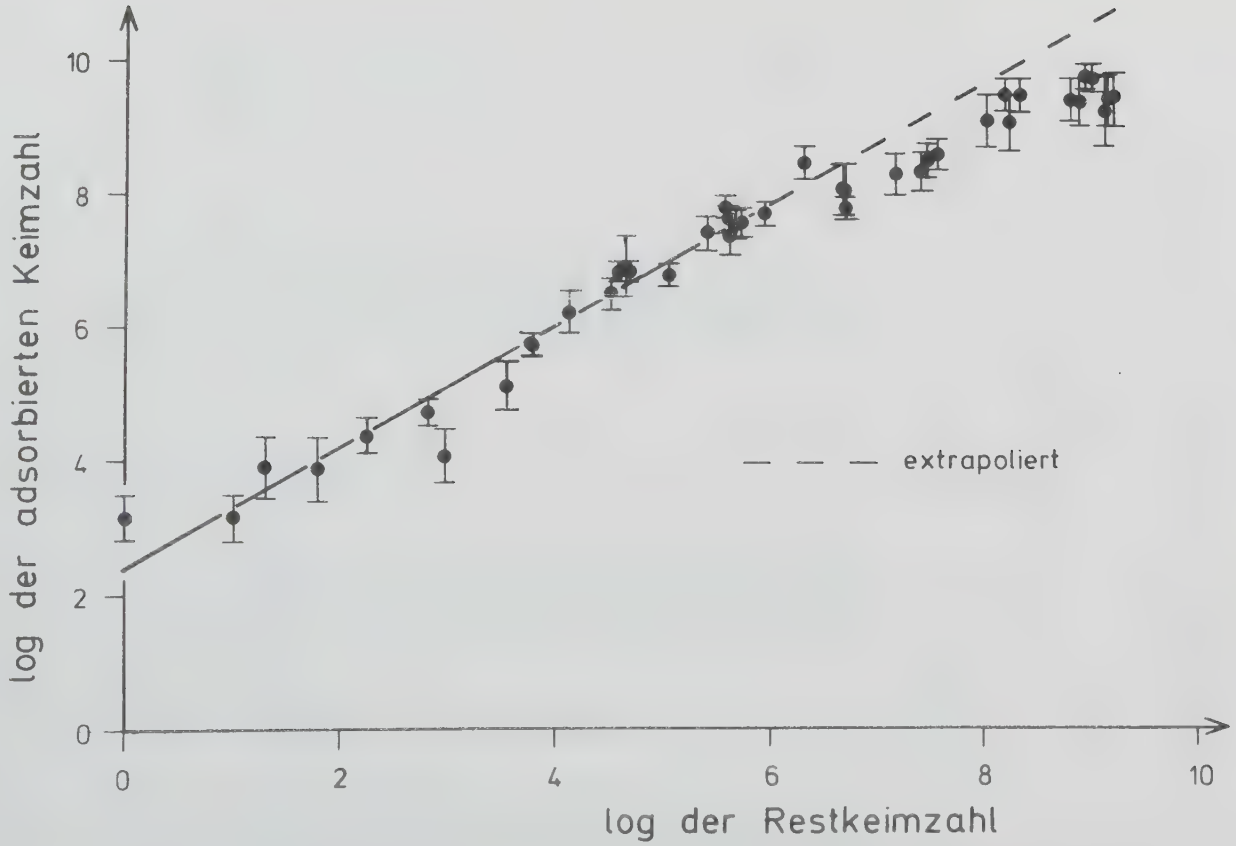


Abb.23 : Adsorptionsisotherme von Escherichia coli an die poröse Kieselsäure K_1 bei 25°C

4.2.4.5. Fehlerbetrachtung und Auswertung des Adsorptionsverlaufes nach dem FREUNDLICH- Modell

Das Adsorptionsverhalten zahlreicher Adsorbentien läßt sich nach FREUNDLICH[97] durch folgende Beziehung beschreiben:

$$x = \alpha \cdot c^{\frac{1}{m}} \qquad \text{(Glg.1)}$$

mit

x	Belegung der Adsorbensoberfläche
c	Gleichgewichtskonzentration
α	Adsorptionswert
$\frac{1}{m}$	Adsorptionsexponent

Diese allgemeine parabolische Beziehung wurde rein empirisch gefunden, doch hat sie von ZELDOWITSCH [106] ihre theoretische Untermauerung erfahren. Danach ist die Adsorption nicht mehr durch einen einzigen energetischen Zustand bestimmt(beim LANGMUIR- Modell werden ja alle Adsorptionsplätze der Monoschicht als energetisch gleichwertig angesehen), sondern die Adsorptionswärme nimmt logarithmisch mit der Belegung ab.

Die Beziehung (Glg.1) kann oft deshalb nicht graphisch wiedergegeben werden, weil die Werte von x und c meist viele Zehnerpotenzen umfassen. Die logarithmierte Form

$$\log x = \log \alpha + \frac{1}{m} \log c \qquad \text{(Glg.2)}$$

läßt sich hingegen leicht darstellen und ist darüber hinaus als Geradengleichung einer Ausgleichsrechnung zugänglich.
Aus der Ausgleichsgeraden können dann Adsorptionswert und Adsorptionsexponent bestimmt werden.

Für den hier behandelten Fall der Bakterienadsorption nimmt Glg.2 die Form an

$$\log a = \log \alpha + \frac{1}{m} \log r \qquad \text{(Glg.3)}$$

mit

$$a = v - r \,, \qquad \text{(Glg.4)}$$

wobei

v die vorgelegte Keimzahl,

r die Restkeimzahl

a die adsorbierte Keimzahl

bedeuten.

Vorgelegte Keimzahl und Restkeimzahl bestimmen sich aus der Anzahl der auf den Platten ausgezählten Keimkolonien und dem jeweiligen Faktor der Verdünnungsstufe.

Glg.4 erhält damit die Form

$$a = n_v \cdot 10^{e_v} - n_r \cdot 10^{e_r} \qquad \text{(Glg.5)}$$

mit

n_v, n_r den Anzahlen der Keimkolonien zur Bestimmung der vorgelegten Keimzahl v bzw. der Restkeimzahl r,

e_v, e_r den entsprechenden Exponenten der Faktoren der Verdünnungsstufen.

Nach den Gesetzen der Fehlerfortpflanzung gilt für den Fehler von a

$$\Delta a = \sqrt{(\Delta v)^2 + (\Delta r)^2} \qquad \text{(Glg.6)}$$

Die Fehler von v und r werden nun aber wesentlich bestimmt durch den statistischen Fehler der Auszählung der Keimkolonien $\sqrt{n}$.

Für Δv und Δr gelten demnach die Ansätze

$$\Delta v = k \sqrt{n_v} \cdot 10^{e_v} \qquad \text{(Glg.7)}$$

$$\Delta r = k \sqrt{n_r} \cdot 10^{e_r} , \qquad \text{(Glg.8)}$$

wobei k einen zusätzlichen Faktor der experimentellen Ungenauigkeit darstellt.
Wiederholte Bestimmungen von a haben gezeigt, daß sich die Standardabweichungen einschließlich aller Präparations- und Meßfehler im Bereich des 3 -fachen statistischen Fehlers halten, so daß von

$$k = 3$$

ausgegangen werden kann.

Mit Glg.7 und 8 folgt für Glg.6

$$\Delta a = k \sqrt{n_v \cdot 10^{2e_v} + n_r \cdot 10^{2e_r}}$$

und nach Umformung

$$\Delta a = k \cdot 10^{e_v} \sqrt{n_v + n_r \cdot 10^{2(e_r - e_v)}} \qquad \text{(Glg.9)}$$

Die für die Fehler von log a und damit für die Wichtung der Ausgleichsrechnung (siehe a. Kap. 4.2.2.2.) entscheidende Beziehung ergibt sich nach dem Fehlerfortpflanzungsgesetz zu

$$\Delta (\log a) = \log e \; \frac{\Delta a}{a} \qquad \text{(Glg.10)}$$

Mit Glg. 5 und 9 folgt daraus

$$\Delta(\log a) = \underset{(\log e)}{0.4343} \cdot k \; \frac{\sqrt{n_v + n_r \cdot 10^{2\,(e_r - e_v)}}}{n_v - n_r \cdot 10^{(e_r - e_v)}} \qquad \text{(Glg. 11)}$$

Für das Gewicht der log a- Werte gilt entsprechend

$$p = \frac{1}{\left[\Delta(\log a)\right]^2} \qquad \text{(Glg.12)}$$

Die Berechnung der gewichteten Ausgleichsrechnung erfolgte wiederum über ein Rechenprogramm.
Für die Ausgleichsgerade

$$Y = A + B \cdot X$$

ergeben sich:

Korrelationskoeffizient	K = 0.96
Konstante	A = 2.37
Konstante	B = 0.909

Damit nehmen die Koeffizienten der FREUNDLICHschen Adsorptionsisotherme folgende Werte an

Adsorptionswert	α = 233.6
Adsorptionsexponent	$\frac{1}{m}$ = 0.909

Die gewichtete FREUNDLICH- Adsorptionsisotherme ist in Abb.23 wiedergegeben.
Es zeigt sich deutlich, daß das FREUNDLICH- Modell bis zu adsorbierten Keimzahlen von $\sim 10^8$ bei Restkeimzahlen von $\sim 10^6$ das Adsorptionsverhalten von Bakterien an die Kieselsäure K_1 sehr gut beschreibt.
Erst bei höheren Restkeimzahlen bleibt die adsorbierte Keimzahl unterhalb der extrapolierten Werte.

5. DISKUSSION

Die umstrittene Wirksamkeit von Antibiotika bei zahlreichen Diarrhoen, die mögliche Ansiedlung resistenter Mikroorganismen bei einer Antibiotikatherapie, die mögliche Übertragung von Resistenzfaktoren von der physiologischen Darmflora auf pathogene Bakterien unter dem Selektionsdruck von Antibiotika und schließlich die beachtliche Toxizität einiger Darmtherapeutika stellen bedeutsame Probleme der Durchfalltherapie dar.

In der vorliegenden Arbeit galt es nachzuprüfen, ob synthetisches amorphes Siliciumdioxid befähigt ist, pathogenetisch relevante Makromoleküle sowie Bakterienzellen in bedeutender Menge und in stabiler Bindung an seiner inneren und äusseren Oberfläche zu binden und ob damit diese oberflächenaktive Substanz in der Lage ist, die heute bestehende Therapielücke in der Diarrhoebehandlung zu schließen, bzw. eine ernstzunehmende Alternative zur heutigen Chemo- bzw. Antibiotikatherapie darzustellen.

Die in der Literatur beschriebene Bindung von Fermenten, Lipoproteiden und Australia- Antigen sowie die in der hier vorliegenden Arbeit nachgewiesene Bindung von Hämoglobin und Staphylokokken- Enterotoxin läßt den Schluß zu, daß Proteinmakromoleküle grundsätzlich an Siliciumdioxidoberflächen adsorbierbar sind.

Das Hämoglobinmolekül wurde als Modell für die Messung des Adsorptions- und Desorptionsverhaltens herangezogen. Es eignet sich besonders als Modellsubstanz für größerdimensionierte Moleküle, da seine Gestalt bei Rotation nahezu als Kugel mit konstantem Durchmesser zu betrachten ist (Größe des Hämoglobinmoleküls:64 Å × 55 Å × 5o Å) und sein Molekulargewicht mit 68 ooo in der Größenordnung bekannter Toxine liegt (Staphylokokken- Enterotoxin: MG 29ooo; Cholera- Enterotoxin MG 9oooo).

Die Adsorption derart dimensionierter Moleküle ist im Hinblick auf eine Bindung von Toxinen insofern von großem Interesse, als die von Bakterien freigesetzten Toxine Ursache zahlreicher Diarrhoen sind und bis heute noch keine spezifische, die Toxine angreifende Therapie oder Immunprophylaxe bekannt ist.

Einschränkend zur grundsätzlichen Adsorbierbarkeit von Makromolekülen an Siliciumdioxidoberflächen muß jedoch betont werden, daß eine Bindung nur dann stattfinden kann, wenn die Makromoleküle die Adsorptionsflächen des Adsorbens erreichen und mit ihnen in Wechselwirkung treten können.
Diese "Erreichbarkeit" oder "Verfügbarkeit" der Adsorptionsflächen ist Voraussetzung für eine ausgeprägte Adsorption des Makromoleküls an der Adsorbensoberfläche.
Diese Voraussetzung ist jedoch nicht bei allen untersuchten Siliciumdioxidtypen und Kohletypen erfüllt.
Der Grund hierfür liegt im morphologischen Feinbau dieser Adsorbentien.
Die adsorbierenden Oberflächen sind Grenzflächen einer ausgeprägten, dreidimensionalen Hohlraumstruktur:
Durch Aneinanderlagerung polygonal geformter Kolloidteilchen * entstehen dreidimensionale Aggregate.
Diese Aggregate können eine lockere, offene Flockenstruktur besitzen oder kompakteren Charakter haben.
Die Aneinanderlagerung der Kolloidteilchen bedingt kapillarartige Hohlräume, die man als Poren bezeichnet. In Abhängigkeit von Form und Größe der Kolloidteilchen wird ein Kapillarsystem erster Ordnung mit Durchmessern von wenigen Ångström (Primärkanäle) und in Abhängigkeit von Form und Größe der Aggregate ein größerdimensioniertes Kapillarsystem zweiter Ordnung (Sekundärkanäle: Durchmesser in der Größenordnung von wenigen Ångström bis unter Umständen einigen tausend Ångström) gebildet.
Nur die Sekundärkanäle kommen für die hier interessierenden gelösten Moleküle als Adsorptionshohlräume in Frage.
Die Primärkanäle dagegen sind aus sterischen Gründen nur noch für Gase zugängliche Adsorptionshohlräume.

Die hier untersuchten 7 porösen, 2 unporösen Kieselsäure- Xerogele sowie die zwei untersuchten porösen Aktivkohlen unterscheiden sich jedoch stark in ihrem morphologischen Feinbau:
Die Größe der Kolloidteilchen, die Dichte und Form der Aggregate und die

---

* Größe der Kolloidteilchen: wenige Ångström bis mehrere hundert Ångström

dadurch bedingte Porenweite der als Adsorptionshohlräume zur Verfügung stehenden Sekundärkanäle variieren bei den einzelnen Adsorbenstypen zum Teil stark.
Die hier durchgeführte elektronenmikroskopische Untersuchung zeigte:

1) daß alle untersuchten gefällten, porösen Kieselsäuren mit Ausnahme der Type K_4 aufgrund einer lockeren, offenen Flockenstruktur besonders weite als Adsorptionshohlräume in Frage kommende Sekundärkanäle besitzen(Durchmesser der Sekundärkanäle etwa 12o- 3ooo Å);

2) daß nicht alle gefällten, porösen Siliciumdioxidtypen diesen lockeren, weitporigen Aggregataufbau aufweisen;
So ist das Erscheinungsbild der gefällten porösen Kieselsäure K_4 mit seinen sehr kleinen Kolloidteilchen,einem kompakten,nicht flockigen Aggregataufbau und der dadurch bedingten extremen Engporigkeit der Adsorptionshohlräume(mittlerer Durchmesser der Sekundärkanäle nur etwa 2o Å) völlig andersartig als das der übrigen untersuchten porösen Kieselsäuren.

3) daß die untersuchten, üblicherweise als u n p o r ö s bezeichneten Kieselsäuretypen einen morphologischen Feinbau zeigen, der dem der sogenannten porösen Kieselsäuren sehr ähnlich ist;
Auch bei diesen unporösen Typen bedingt die Aggregation von Kolloidteilchen eine weitporige Hohlraumstruktur.

4) daß das morphologische Erscheinungsbild bestimmter,jedoch therapeutisch nicht verwendeter* Kohletypen dem der weitporigen Kieselsäuretypen sehr ähnlich sein kann;
So besteht die Rußkohle AK_2 ebenfalls aus Kolloidteilchen, die zu einer Flocke mit weiter Hohlraumstruktur aggregiert sind.

5) daß die normalerweise medizinisch verwendeten, den Arzneibuchanforderungen genügenden Aktivkohlen nicht diesen lockeren Aggregataufbau aufweisen;
Die hier untersuchte, therapeutisch verwendete Aktivkohle AK_1 fällt durch extreme Engporigkeit des Hohlraumsystemes auf und ähnelt im Erscheinungsbild der aus dem Rahmen fallenden Kieselsäure K_4.

---

* Diese Kohle entspricht nicht den Arzneibuchanforderungen, da die Qualitätsprüfung nur die besonders engporigen Aktivkohlen selektioniert.

Ob die Sekundärkanäle der Adsorbentien beim Zusammenbringen mit den gelösten Adsorptivmolekülen zu Adsorptionshohlräumen werden, d.h. mit Adsorptivmolekülen gefüllt werden oder leer bleiben, wird einerseits von den Dimensionen dieses Hohlraumsystems und andererseits von der Größe der Adsorptivmoleküle bestimmt.
So sind für kleine Moleküle, wie Gasmoleküle, die in die kleinsten Winkel eines Hohlraumsystemes einzudringen vermögen, alle Adsorptionsflächen der Sekundärkanäle, ja sogar der Primärkanäle auch engporigster Adsorbenstypen erreichbar.
Somit gibt die durch N_2- Adsorption bestimmte, spezifische Oberfläche, sog. BET- Oberfläche, immer die gesamte für das Gasmolekül erreichbare Oberfläche an.Ein Vergleich der BET- Oberflächen der hier untersuchten Adsorbentien zeigt zwar große Unterschiede , jedoch ist die Größe kein Maß für die therapeutische Wirksamkeit (vgl.Tab.22).
Auch die Beurteilung des Adsorptionsvermögens eines Adsorbens erfolgt in den Arzneibüchern ausschließlich mit kleinen Molekülen(Molekulargewichte zwischen 94 und 67o).So wird im DAB Methylenblau als Prüfadsorptiv verwendet. Der zum Eindringen des Methylenblaumoleküls erforderliche Mindestporendurchmesser beträgt nur 12- 15 Å. Für Methylenblau werden somit die Sekundärkanäle aller hier untersuchten Adsorbentien zu verfügbaren Adsorptionshohlräumen.
Es unterliegt in keinem Fall einer sterischen Hinderung des Eindringens. Große BET- Oberflächen wirken sich daher in diesem Fall besonders günstig auf das Ausmaß der Methylenblaubindung aus.

Zieht man die Methylenblauadsorption nicht nur zur Identitätsprüfung eines Adsorbens, sondern auch als Kriterium zur Beurteilung seiner therapeutischen Wirksamkeit heran, so müßte man:

a) die medizinische Aktivkohle AK_1(BET- Oberfläche 2loo m^2/g) für ein ausgezeichnetes Adsorbens,

b) Kieselsäuren(BET- Oberflächen 18o-8oo m^2/g) für relativ schwache Adsorbentien,

c) und das Adsorptionsvermögen verschieden strukturierter Kieselsäuren unabhängig von ihrer Porenweite für annähernd gleich halten.

Zu welchen Trugschlüssen eine Beurteilung der therapeutischen Wirksamkeit mit einem kleindimensionierten Molekül wie Methylenblau(24Å x 12Å x 2-9Å) führt, wird erst klar, wenn man als Prüfadsorptiv ein Molekül wie Hämoglobin heranzieht, welches einerseits in seiner Größe den pathogenetisch relevanten Molekülen(Toxinen) entspricht und dessen Moleküldurchmesser (maximaler Durchmesser 64 Å) andererseits an die Dimensionen der Porendurchmesser(ca. 2o- 18o Å) heranreicht.

So führt die Prüfung des Adsorptionsvermögens mit dem größerdimensionierten Hämoglobinmolekül(64 Å x 55 Å x 5o Å) zu einer gegenteiligen Aussage:

a) Die therapeutisch verwendete Aktivkohle AK_1 kann ein größerdimensioniertes Molekül wie Hämoglobin kaum binden und ist damit als Therapeutikum im Hinblick auf die Bindung pathogenetisch relevanter Makromoleküle ungeeignet.

b) Die typischen Vertreter der porösen und der unporösen Kieselsäuren (K_1,K_3,K_8,K_9) zeichnen sich durch ein besonders gutes Adsorptionsvermögen für Hämoglobin aus und sind für die Makromoleküladsorption geeignete Adsorbentien.

c) Die im morphologischen Erscheinungsbild untypische Siliciumdioxidtype K_4 ist kaum zur Bindung von Hämoglobin befähigt und ähnelt damit nicht nur im morphologischen Feinbau, sondern auch im Reaktionsverhalten der engporigen Aktivkohle AK_1.

d) Die verschieden strukturierten Kieselsäuretypen und Aktivkohlen zeigen in Abhängigkeit von den Dimensionen ihrer Hohlraumstruktur ein unterschiedliches Bindungsvermögen gegenüber Hämoglobin.

Die Ursache für die ungenügende Adsorption des Hämoglobin- Makromoleküls an die medizinische Aktivkohle AK_1 und die Kieselsäure K_4 liegt im morphologischen Feinbau dieser Adsorbentien. Während das engporige Hohlraumsystem für Methylenblau noch zugänglich ist, vermag Hämoglobin aus räumlichen Gründen nicht mehr einzudringen.Für dieses große Molekül ist nur die äußere Oberfläche, die nur einen geringen Prozentsatz der Gesamtoberfläche ausmacht,als Adsorptionsfläche verfügbar, was sich in den gemessenen geringen Adsorptionswerten äußert.

Dagegen sind die typischen, gefällten, porösen Kieselsäuren K_1 und K_3 sowie die pyrogenen*, sogenannten unporösen Kieselsäuren K_8 und K_9 trotz der relativ kleinen spezifischen Oberflächen(23o- 38o m^2/g) zu einer ausgeprägten Bindung dieses Makromoleküles befähigt.
Die Sekundärkanäle der porösen Typen K_1 und K_3 (mittlerer Porendurchmesser 13o Å bzw. 18o Å) und offensichtlich auch die Hohlräume der sogenannten unporösen Typen K_8 und K_9 sind für Hämoglobin zugängliche Adsorptionshohlräume.

Die Adsorption an die Kieselsäuren K_1,K_3,K_8 und K_9 *2 läßt sich durch LANGMUIR- Adsorptionsisothermen beschreiben.
Dagegen ist die Adsorption an die untypisch engporige Kieselsäure K_4 und die Aktivkohle AK_1 aufgrund der minimalen Wechselwirkung nicht nach LANGMUIR erfassbar.

Neben dem Ausmaß der Makromolekülbindung an Siliciumdioxid ist die Stabilität dieser Bindung von Wichtigkeit.
Ein wirksames Adsorbens erfordert unter den im Intestinaltrakt herrschenden physiologischen Bedingungen eine weitgehend irreversible Bindung der toxischen Makromoleküle.
Nur dann ist eine Elimination der toxischen Moleküle aus dem Intestinaltrakt als Siliciumdioxid- Makromolekül- Adsorbat mit dem Stuhl gewährleistet.
Dies erscheint nach den hier vorliegenden Ergebnissen als wahrscheinlich.
Die Bindung des Hämoglobins an die Siliciumdioxidoberfläche ist sehr fest.
Nach 1o Desorptionsschritten sind noch 85.2 % der ursprünglich adsorbierten Hämoglobinmenge gebunden.
Das Staphylokokken- Enterotoxin wurde sogar irreversibel an die Kieselsäureoberfläche adsorbiert.

Aus obigen Ergebnissen kann man schliessen, daß die bezüglich ihres mor-

---

* Der Begriff "pyrogen" bezeichnet nur das Herstellungsverfahren(s.S.3o).

*2 Allerdings zeigen sich (vor allem bei K_8 und K_9) auch systemische Abweichungen vom idealisierten Langmuir-Modell im Bereich höherer Konzentrationen von Hämoglobin.

phologischen Feinbaus typischen Vertreter des Siliciumdioxids geeignete Adsorbentien für die Adsorption von Makromolekülen darstellen, die medizinische Aktivkohle AK_1 und die Kieselsäure K_4 dagegen ungeeignete Adsorbentien sind.

Die gute Adsorptionskraft des Siliciumdioxids mit geeigneter Hohlraumstruktur wird auch durch die Ergebnisse der Toxinbindung bestätigt: Staphylokokken- Enterotoxin wird von den Kieselsäuren K_3,K_6,K_7 und von einem Kieselsäure-Handelspräparat* in einem Adsorptionsschritt zu 44- 48% der vorgelegten Menge(1.5/ug bzw. 2.6/ug) adsorbiert, wobei die adsorbierten Mengen bereits toxische Dosen darstellen.
Weitere Adsorptionsschritte, entsprechend einer mehrmaligen oralen Applikation von Kieselsäure, könnten freies Toxin weitgehend eliminieren.

Diese Ergebnisse zeigen weiterhin, daß die in den Arzneibüchern übliche Prüfung des Adsorptionsvermögens von chemisch zwar identischen, doch im Feinbau möglicherweise sehr differierenden Adsorbentien mit ausschließlich kleinen Prüfadsorptiven gerade die Adsorbenstypen selektioniert, die sich durch große spezifische Oberflächen,Engporigkeit und damit schlechte therapeutische Wirksamkeit auszeichnen.
Es wäre daher sinnvoll, in den Arzneibüchern eine Untersuchung mit größerdimensionierten Adsorptivmolekülen zu fordern, die neben der Sicherung der Identität gleichzeitig die Sicherung der therapeutischen Wirksamkeit repräsentiert.

---

* Entero- Teknosal(Fa.Taco)

Zur Beurteilung der therapeutischen Wirksamkeit des Siliciumdioxids ist neben der Makromolekülbindung, d.h. der Toxinbindung, die Bindung von Bakterien als Ursache zahlreicher Diarrhoen von großem Interesse.
Die Bindung der Bakterienzellen unterliegt, wie aus Kapitel 5.1. hervorgeht, anderen Gesetzmäßigkeiten als die Makromolekülbindung.
Bei der Moleküladsorption ist das Verhältnis des Porendurchmessers des Adsorbens zum Moleküldurchmesser des Adsorptives,d.h. die Zugänglichkeit der inneren Oberfläche ein entscheidendes Kriterium für eine ausgeprägte Adsorption.
Ganz anders verhalten sich Bakterienzellen. Sie werden in erheblichem Ausmaß gebunden, obwohl die Voraussetzung des Eindringens in das Hohlraumsystem der Adsorbentien aus räumlichen Gründen gar nicht gegeben ist.
Auch zeigen sich kaum Unterschiede im quantitativen Ausmaß der Adsorption der Bakterienzellen an Adsorbentien unterschiedlicher chemischer Natur und Porosität.
So sind alle untersuchten Siliciumdioxidtypen einschließlich der Kieselsäure K_4 und ebenfalls die Aktivkohle AK_1 befähigt, Bakterienzellen in großem Ausmaß zu binden.
Die adsorbierte Keimzahl liegt bei allen untersuchten hochdispersen Adsorbentien zwischen 99 und loo% der vorgelegten Keimzahl.

Damit ist die medizinisch verwendete Aktivkohle AK_1 und die Kieselsäure K_4 in bezug auf eine Toxinbindung ungeeignete, jedoch in bezug auf eine Bakterienbindung geeignete Adsorbentien.
Die typisch strukturierten Kieselsäuren sind dagegen in jedem Fall, also sowohl für eine Toxinbindung als auch für eine Bakterienbindung sehr geeignete Adsorbentien.

Alle beobachteten Phänomene der Bakterienbindung lassen sich mit einem von der Molekülbindung abweichenden, im folgenden Kapitel 5.1. noch eingehend diskutierten Bindungsmechanismus erklären.

Bisher wurde in der Literatur noch nicht der Versuch unternommen, eine den Molekül- Adsorptionsisothermen analoge Abhängigkeit der adsorbierten Bakterienkeimzahl von der Gleichgewichtskeimzahl zu bestimmen.
Eine Auftragung der dekadischen Logarithmen der adsorbierten Zellen gegen die Gleichgewichtskeimzahl (log a gegen log r) zeigt eine lineare

Abhängigkeit im Keimzahlbereich lo bis 5 x lo^6.
Dieser Bereich läßt sich durch eine bisher nur für Moleküle definierte FREUNDLICHsche Adsorptionsisotherme beschreiben.
Im Bereich höherer Gleichgewichtskeimzahlen (5 x lo^6 bis 9 x lo^8) hört die FREUNDLICH- Adsorptionsisotherme zu gelten auf.
Vergleicht man die Bakterien- Adsorptionsisotherme mit den nach LANGMUIR beschreibbaren Hämoglobin- Adsorptionsisothermen, so fällt ein grundlegender Unterschied auf.
Bei Hämoglobin zeigte sich oberhalb einer bestimmten Hämoglobinkonzentration eine Sättigung der Adsorbensoberfläche, was sich darin äußerte, daß eine weitere Steigerung der vorgelegten Hämglobinmenge zu keiner weiteren Erhöhung der adsorbierten Menge führte.
Die adsorbierte Hämoglobinmenge nahm einen konstanten Wert an, d.h. die maximale Aufnahmefähigkeit der verfügbaren Adsorbensoberfläche war für dieses Molekül erreicht.
Obwohl bei der Messung der Bakterien- Adsorptionsisotherme eine minimale Adsorbensmenge (3mg/ml) pro Ansatz gewählt wurde, führte eine Steigerung der vorgelegten Keimzahlen auch in hohen Gleichgewichtskeimzahlbereichen immer weiter zu einer, wenn auch leicht verminderten Steigerung der adsorbierten Keimzahlen(vgl.Tab. 9).
Die maximale Aufnahmekapazität von 3mg Kieselsäure(K_1) war mit 5.42 x lo^9 gebundenen Keimen noch nicht erreicht.
Dieses Phänomen findet in der im folgenden Kapitel 5.1. beschriebenen Dehnbarkeit des Adsorptionshohlraumes durch Verlängerung der Brückenglieder eine Erklärung.

Die hier vorliegenden Ergebnisse sowie die Literaturergebnisse sprechen dafür, daß Siliciumdioxid geeigneter Struktur ein für die Therapie von Durchfallerkrankungen verschiedener Genese sehr geeignetes Adsorbens darstellt.

Die nachgewiesene Toxinbindung läßt die Wirksamkeit geeigneter Siliciumdioxidtypen bei toxinbedingten Durchfällen wie Cholera, Staphylokokken-Gastroenteritis(Nahrungsmittelvergiftung),Reisediarrhoe durch Enterotoxin-bildende Escherichia coli, Darmerkrankungen durch bestimmte Clostridium- und Shigellaarten und möglicherweise bei noch anderen Durchfallerkrankungen, denen der gleiche pathogenetische Mechanismus zugrundeliegt, vermuten.

Die nachgewiesene ausgeprägte Bindung von Bakterienzellen über einen von der Moleküladsorption verschiedenen, hier als Adsorptions- Flockung bezeichneten Mechanismus(vgl. Kapitel 5.1.) läßt die Wirksamkeit aller Siliciumdioxidtypen bei Diarrhoen bakterieller Ursache erwarten, d.h. Durchfallerkrankungen, bei denen die Erreger selbst den Durchfall über verschiedene mögliche Mechanismen auslösen.
Zu diesen Erkrankungen zählen die gastroenteritischen Salmonellosen, Shigellosis(Bakterienruhr), antibiotikabedingte Enterocolitis und die Coli- Enteritis durch nicht Enterotoxin- bildende invasive E.coli,aber auch chologene Diarrhoen, sofern sie auf einer Bakterienproliferation im Dünndarm beruhen.
Weiterhin können die bereits genannten toxinbedingten Durchfälle hier wiederum angeführt werden, da anzunehmen ist, daß neben der Toxinbindung die Bindung der toxinproduzierenden Bakterien selbst die Schwere der Erkrankung beeinflussen dürfte.

An dieser Stelle soll jedoch bemerkt werden, daß die oben genannten Indikationen aus den experimentellen in- vitro- Daten rein theoretisch gefolgert wurden, sich jedoch nicht auf klinische Untersuchungen stützen.

Einige der oben angeführten, aus den experimentellen in-vitro-Daten geschlossenen Indikationen werden durch praktische therapeutische Er-

fahrungen mit einem Siliciumdioxidpräparat* bestätigt.
So wurde z.B. bei antibiotikabedingter Staphylokokken- Enterokolitis an verschiedenen Kliniken[104] drastische Erfolge mit der Siliciumdioxid-Adsorptionstherapie gesehen.
In der Praxis hat sich weiterhin die Adsorptionstherapie mit Siliciumdioxid bei gastroenteritischen Salmonellosen, bei Divertikulitis (Sigmoiditis), bei Durchfällen nach Magen- und Darmresektionen und bei Anus praeter naturalis und schließlich bei Meteorismus als günstig erwiesen.

Obwohl auf dem Gebiet der Adsorptionstherapie mit Siliciumdioxid mangels ausreichender Untersuchungen noch viele Fragen offen bleiben müssen, so kann doch schon heute aufgrund der hier und in der Literatur vorliegenden Daten sowie aufgrund der praktischen Erfahrung diese Therapie bei zahlreichen Diarrhoen als erfolgversprechend angesehen werden.

Die Adsorptionstherapie mit Siliciumdioxid kann in vielen Fällen eine Alternative zur heutigen Antibiotika- bzw. Chemotherapie darstellen und zusätzlich die heute bestehende Therapielücke, d.h. die bis heute nicht mögliche Toxinbeseitigung, schließen.

Die Chance der Adsorptionstherapie liegt:

1) in dem im Vergleich zur heute meist üblichen Antibiotika- und Chemotherapie völlig anderen Wirkungsmechanismus;

2) in der völligen Atoxizität dieser Substanz bei oraler Applikation, die auch bei einer Dauertherapie keine Nebenwirkungen erwarten läßt;

3) weiterhin darin, daß Siliciumdioxid ohne pharmakologische Allgemeinwirkungen ausschließlich im Intestinaltrakt wirksam wird.

---

* Entero-Teknosal (Fa.Taco)

Diese risikolose Adsorptionstherapie mit Siliciumdioxid sollte bei allen aufgrund ihrer Pathogenese für eine Adsorptionstherapie geeignet erscheinenden Durchfallerkrankungen zumindest versucht werden.
Bei schweren Durchfällen sollte diese Therapie neben einer adäquaten Elektrolyt- und Volumensubstitution durchgeführt werden.
Die orale Gabe des Siliciumdioxids sollte grundsätzlich auf leeren Intestinaltrakt, d.h. zwischen den Mahlzeiten erfolgen,damit die adsorbierenden Oberflächen nicht mit Nahrungsbestandteilen blockiert werden.
Weiterhin sollte die Gabe in ausreichend hoher Dosierung(ein bis mehrere Teelöffel pro Dosis) erfolgen, da die verabreichte Menge die Größe der Adsorptionsflächen bestimmt.
Der Dosis sind aufgrund der Atoxizität der Substanz nach oben kaum Grenzen gesetzt; doch erscheinen Teelöffelmengen(≈2-3g)pro Dosis nach der bisherigen Erfahrung als ausreichend.

Zur weiteren Abklärung des dem Siliciumdioxid zugrundeliegenden Wirkungsmechanismus und der für eine Adsorptionstherapie in Frage kommenden Indikationen sind noch weitere Arbeiten erforderlich.
Fernziel ist es, die Bindung weiterer Exotoxine, wie z.B. die des Choleratoxins,die Bindung von anderen bakteriellen Erregern, ferner von Protozoen, Hefen und Viren, die in der Pathogenese von Darmerkrankungen eine Rolle spielen , sowohl in vitro als auch in vivo abzuklären.
Auch wäre noch zu prüfen, ob Bakterienzellen unabhängig von ihren Resistenzeigenschaften gebunden werden.
Weiterhin sollte auch die Wirksamkeit einer Siliciumdioxid-Adsorptionstherapie bei verschiedenen Vergiftungen abgeklärt werden. Untersuchungen über die Bindung einiger giftiger Kationen liegen bereits vor(vgl. Kapitel 2.1. und 2.2.).
Von großem Interesse schließlich wäre auch die Bindung von Endotoxinen (=Lipopolysaccharide), da heute Endotoxine intestinaler Bakterien für die Pathogenese einiger Lebererkrankungen(Hepatitis,Cirrhosen u.s.w.) verantwortlich gemacht werden [103].

5.1. Diskussion des Bakterien- Bindungsmechanismus

Über den Mechanismus der Bakterienbindung an Adsorbentien liegen bisher keine Arbeiten vor.
Die hier beschriebenen Phänomene lassen jedoch auf einen Adsorptionsflokkungsmechanismus schließen, der in ähnlicher Weise bei der Reaktion verschiedener Substanzen mit Siliciumdioxid auftritt.
So ist bekannt, daß verschiedene anorganische Substanzen(Elektrolyte, kationische und nichtionische Tenside, kationische und nichtionogene Polymere und kationische anorganische Kolloide) mit Siliciumdioxid durch g l e i c h z e i t i g e Adsorption an den Oberflächen m e h r e r e r Siliciumdioxidpartikel dreidimensionale Aggregate bilden, die dann als Flocken sedimentieren.
Diese flockenden Substanzen werden in Abhängigkeit von ihrer Struktur und Ladung durch verschiedene Kräfte zwischen den Siliciumdioxidpartikeln gebunden.
Eine Übersicht über hypothetische Bindungsmechanismen dieser bisher bekannten flockungsaktiven Verbindungen gibt Iler [53].

Bei Bakterien ist unter Berücksichtigung der negativen Ladung der Siliciumdioxidpartikel und der negativen Ladung der Bakterienzellen [98,99] eine Bindung in flockigen Aggregaten über brückenausbildende anorganische Kationen vorstellbar.
Dies soll im einzelnen erläutert werden:
McCalla [100] konnte mittels vier verschiedener Bestimmungsmethoden an Hand von Escherichia coli nachweisen, daß Bakterienzellen, die in einem ausgeglichenen Milieu gewachsen sind, verschiedene anorganische Kationen(Na^+,K^+,Ca^{++},Mg^{++} etc.) aus dem Medium an ihrer Oberfläche adsorptiv tragen.Pro Bakterienzelle Escherichia coli errechnete er annähernd 10^8 zur Bindung von Kationen befähigte Aktivplätze.
Aber nicht nur die Bakterienzelle, sondern auch die Siliciumdioxidoberfläche neigt zur Anreicherung anorganischer Kationen (Na^+,Li^+,K^+,NH_4^+,Ca^{2+}, Mg^{2+},Fe^{3+},Al^{3+}) [101].Diese können als durch die Herstellung bedingte Verunreinigungen oder aus dem Versuchsmilieu an der Siliciumdioxidoberfläche durch Ionenaustausch gebunden sein.

Natrium und andere Sauerstoff-koordinierende Kationen sind bereits als Siliciumdioxid- flockende Agentien beschrieben [102], wobei die hydratisierten Kationen zwischen den Siliciumdioxidpartikeln Brücken bilden.

Liegt nun ein System mit den drei Reaktionspartnern Siliciumdioxid, Bakterien und den daran adsorbierten anorganischen Kationen vor, so ist folgender Reaktionsmechanismus vorstellbar:
Durch gleichzeitige Adsorption der mit einer Kationschicht umgebenen Bakterienzellen an zwei oder mehreren Siliciumdioxidpartikeln kommt es zu einer Verknüpfung der Siliciumdioxidpartikel über K^+- Bakterien- K^+ -Brücken *.
Ist die Zahl der K^+- Bakterien- K^+- Einheiten groß genug, um an mehreren Kontaktstellen der Siliciumdioxidpartikel Brücken auszubilden, so entstehen dreidimensionale Bakterien- Kation- Siliciumdioxid- Aggregate, was zu einer starken Keimreduktion freier Bakterien im Milieu führt.
Dieser dreidimensionale Charakter der Aggregate ist idealisiert in Abbildung 24 dargestellt.

Mit steigender Bakterienkeimzahl scheinen in die Brückenglieder weitere Bakterien unter Bildung von Reihen alternierender Kationen und Bakterien

$$- K^+ - B^- - K^+ - B^- - K^+ - B^- - K^+ - B^- - K^+ -$$

eingelagert werden zu können.
Diese Verlängerung der Brückenglieder hat einen größeren Abstand der einzelnen Siliciumdioxidpartikel und damit eine Vergrößerung des mit Bakterien und Kationen ausgefüllten Hohlraumsystemes zur Folge.

Mit Hilfe eines solchen Aggregatmechanismus ist das enorme quantitative Ausmaß der Bakterienbindung erklärbar.
So können, wie im Phasenkontrastmikroskop erkennbar, mit steigender zugeführter Keimzahl neben der Verlängerung der Brückenglieder auch kleinere Flocken zu größeren zusammenwachsen oder zusätzlich rein adsorptive Bin-

---

* K^+ = anorganische Kationen

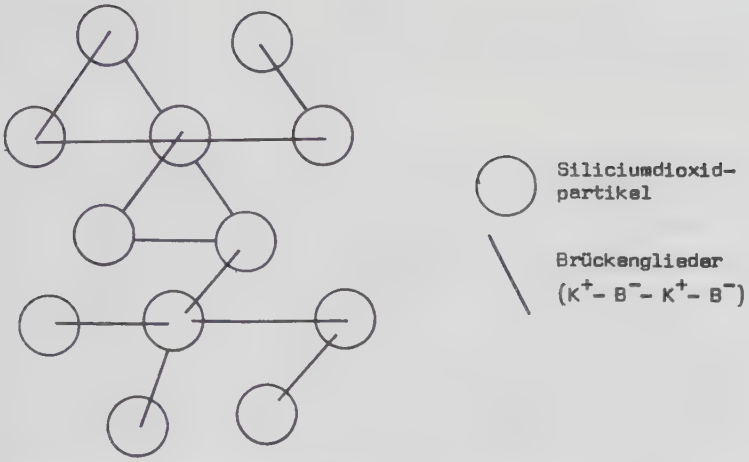


Abb. 24 :Bakterien- Kation- Siliciumdioxid- Aggregate
Darstellung des dreidimensionalen Aufbaues

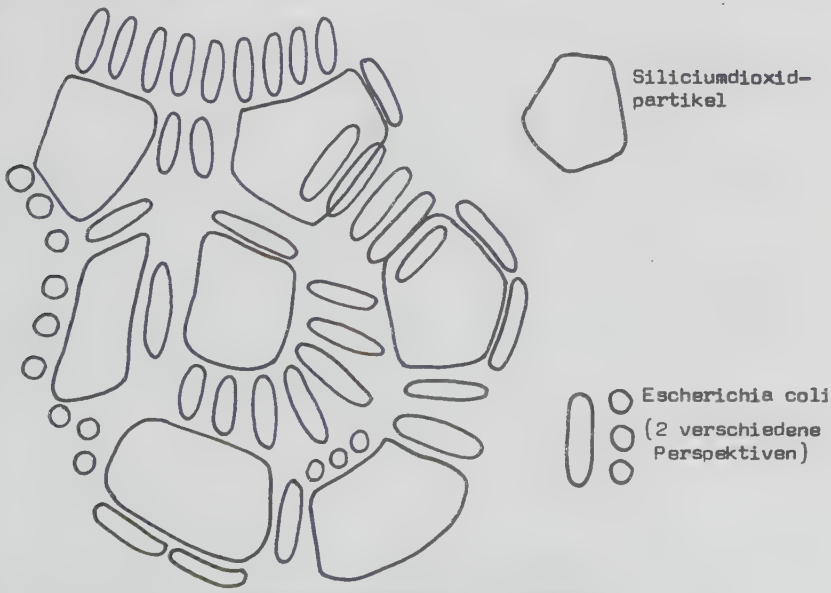


Abb. 25 : Bakterien- Kation- Siliciumdioxid- Aggregate
Darstellung des kompakten Charakters

dungen von Bakterien- Kationeinheiten an noch freien Siliciumdioxidoberflächen stattfinden, wodurch eine stetig wachsende Zahl von Bakterien zu Bestandteilen dieser Aggregate wird und das umgebende Medium weitgehend bakterienfrei wird.

Die Überlagerung dieser zwei verschiedenen Bindungstypen der Bakterien in der Flocke - nämlich Adsorptionsflockung und reine Adsorption- führt, wie aus Abbildung 25 hervorgeht und im Phasenkontrastmikroskop darstellbar, zur Bildung von kompakten Aggregaten, in denen die Zwischenräume zwischen den Siliciumdioxidpartikeln völlig mit Bakterienpartikeln ausgefüllt erscheinen.
Oft sind die in Brückengliedern oder an äußeren Grenzflächen der Flocke gebundenen stäbchenförmigen Bakterienzellen mit ihren Längsseiten bevorzugt parallel aneinandergelagert(vgl. Abb. 25).

Unter Berücksichtigung der Hydratation der Kationen erscheint eine chemische Bindung zwischen den 3- Komponenten der Flocke folgendermaßen möglich:
Die als verbindende Glieder fungierenden Kationen sind normalerweise in wässrigem Milieu hydratisiert, d.h. von mehreren Wassermolekülen* umgeben, die mit ihren O - Atomen zu den Kationen orientiert sind.
Durch Austausch von zwei oder mehreren dieser Wassermoleküle durch je eine Silanolgruppe des Siliciumdioxids oder durch je eine saure, sauerstoffhaltige Gruppierung der Bakterienzellwand kommt es zu einer ein- ,zwei- oder mehrseitigen Verknüpfung der Kationen mit Bakterienzellen und Siliciumdioxidpartikeln.
So entsteht eine dreidimensionale Netzstruktur(vgl. Abb. 26).
Mit dem möglichen Vorliegen einer solchen c h e m i s c h e n Reaktion fände auch die beobachtete Stabilität der gebildeten Flocken eine Erklärung.

---

* Na^+ ist von 6 Wassermolekülen umgeben.

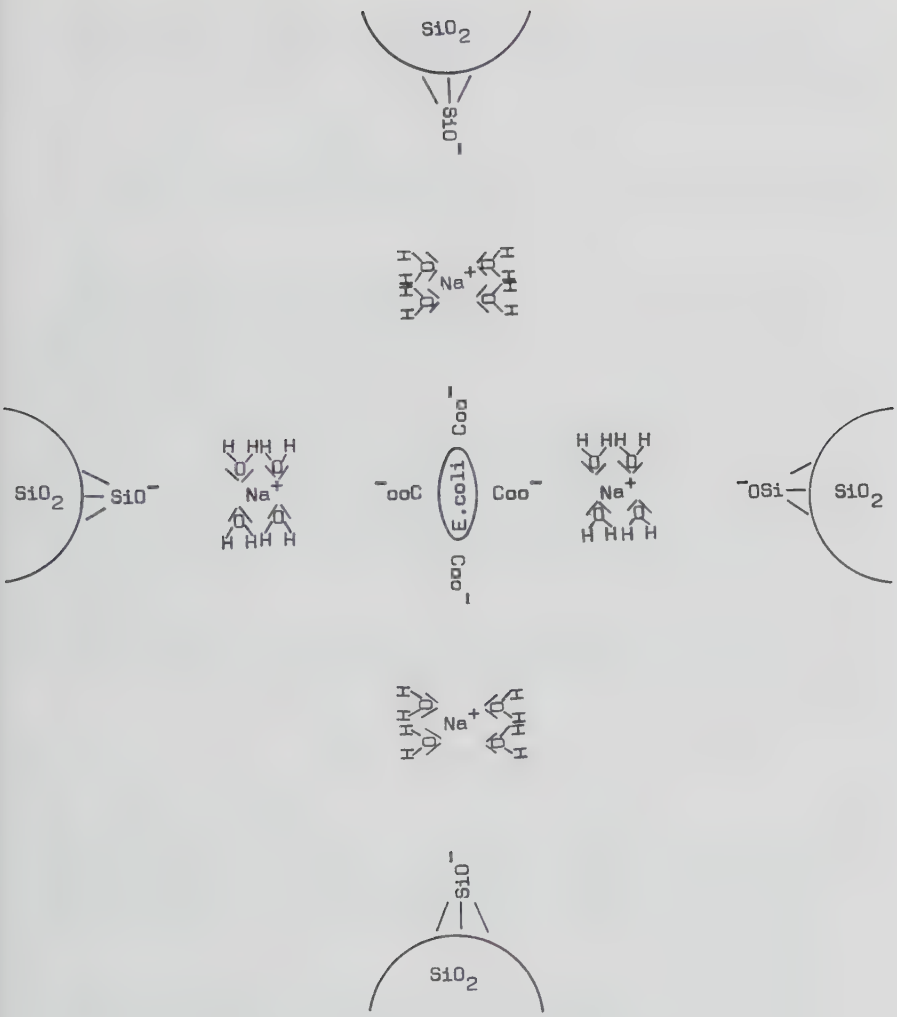


Abb. 26 : Darstellung des Bindungsmechanismus zwischen den 3 Komponenten der Flocke

Mit dem oben dargestellten hypothetischen Mechanismus finden die hier und von anderen Autoren ebenfalls beschriebenen, bisher unverständlichen Bindungsphänomene eine Erklärung.

Die Überlagerung zweier Bindungstypen - Adsorption und Flockung - führt zu Bindungskriterien, die von denen einer reinen Adsorption stark abweichen.
So erfolgt die Bindung der Bakterien im Gegensatz zur Molekülbindung n i c h t i n dem durch die Herstellung bedingten Porensystem erster oder zweiter Ordnung*1 der Siliciumdioxidpartikel, sondern in einem erst durch die Gegenwart der Bakterien- K^+- Einheiten neu gebildeten Hohlraumsystem dritter Ordnung z w i s c h e n den Siliciumdioxidpartikeln*2. Dieses neu gebildete Hohlraumsystem dritter Ordnung ist viel größer dimensioniert als das im Innern der Siliciumdioxidpartikel befindliche Porensystem und daher zur Aufnahme dieser großen Bakterienpartikel befähigt. Durch Verlängerung der Brückenglieder ist dieses Hohlraumsystem sogar in seiner Größe variabel und damit der aufzunehmenden Keimmenge anpaßbar. Durch diese D e h n b a r k e i t des Adsorptionshohlraumes, die nur bei Drei- Komponenten- Flocken möglich erscheint, wird die Aufnahmekapazität mit steigender zugeführter Keimzahl stetig erhöht.

---

*1 d.h. in den Primärkanälen und Sekundärkanälen

*2 Jedoch muß betont werden, daß sich die zur Aufnahme von Adsorptiven befähigten Hohlraumsysteme 1.,2. und 3. Ordnung nicht prinzipiell unterscheiden, da sie alle ihr Vorhandensein einer vorausgegangenen Aggregation verdanken.
So entsteht, wie aus der elektronenmikroskopischen Untersuchung hervorgeht, das Hohlraumsystem 1. Ordnung (=Primärkanälchen) durch Aggregation von Siliciumdioxid- Kolloidteilchen, das Hohlraumsystem 2. Ordnung(= Sekundärkanäle) durch Aggregation dieser als Cluster bezeichneten Aggregate zu noch größeren Aggregaten,d.h. zu den eigentlichen Siliciumdioxidpartikeln, und das Hohlraumsystem 3. Ordnung durch eine weitere Aggregation dieser Partikel zu Flocken.

Dies erklärt die experimentelle Schwierigkeit, in den Sättigungsbereich, also an die Grenze der Aufnahmekapazität zu gelangen, und das Phänomen, daß keine Redispersion*1 bei steigender Zufuhr der Bakterienmenge eintritt.
Weiterhin kann mit der Bildung des den Dimensionen der Bakterienzellen angepaßten Hohlraumsystemes dritter Ordnung erklärt werden, wieso alle untersuchten Adsorbentien die Bakterien in etwa gleichem Ausmaß zu binden vermögen , unabhängig von Porenweite *2 und chemischer Struktur des Adsorbens:
Das im Innern der Adsorbenspartikel befindliche Porensystem ist bei der Reaktion gar nicht als Adsorptionshohlraum beteiligt und seine Größe ist damit kein das Ausmaß der Bindung beeinflußender Faktor.
Vielmehr erscheint die Zahl und Größe der Adsorbenspartikel ausschlaggebend, wobei natürlich die grundsätzliche Adsorbierbarkeit der Bakterienzellen an das Adsorbens für eine Bindung Voraussetzung ist.
Bei allen untersuchten hochdispersen Adsorbentien sind diese entscheidenden Faktoren in etwa konstante Größen, so daß bei all diesen Adsorbentien die Aufnahmekapazität für die Bakterienzellen in der gleichen Größenordnung liegt.
Weiterhin kann mit diesem hypothetischen Mechanismus die von anderen Autoren[50,51] beschriebene Erscheinung, daß das Ausmaß der Bakterienanlagerung an Adsorbentien unabhängig davon ist, ob die Zellen l e b e n d oder t o t sind, folgendermaßen erklärt werden:
Die Bindung der Bakterien erfolgt über die daran adsorbierten Kationen. Die Adsorptionskapazität, und damit die Zahl der an der Bakterienzellwand adsorbierten Kationen, ist aber nach McCalla [100] für lebende und tote Bakterienzellen gleich, so daß unabhängig von der Lebenstätigkeit eine Bindung über Kationen im Aggregat erfolgen kann.

---

*1 Wiederauflösung der Flocken

*2 bezieht sich auf das Hohlraumsystem zweiter Ordnung

Mit obiger, in der Literatur bisher nicht beschriebenen Adsorptions - flockungstheorie können somit alle beobachteten Phänomene der Bakterienbindung an Adsorbentien wie:

Unvereinbarkeit der Bindung zwischen gleichsinnig geladenen Partnern * ,

makroskopisch und lichtmikroskopisch sichtbare Flockenbildung,

hohe Adsorptionsrate ,

geringer Einfluß der chemischen Natur und Porosität des Adsorbens auf das Ausmaß der Bindung
sowie

das gleiche Ausmaß der Bindung lebender und toter Zellen

erklärt werden.

---

* Bakterien und Siliciumdioxidpartikel tragen in dem vorliegenden pH- Bereich eine negative Ladung.

Tab.1o: Adsorptionsisotherme von Hämoglobin an die poröse Kieselsäure K_1 bei 2o°C

Versuchsbedingungen: Menge Adsorbens m=2oo mg K_1
Milieu: wässrig, pH_7 gepuffert
Temperatur: 2

Vorgelegte Menge Hb(mg) in 2o ml Lösung v	Restmenge Hb(mg) in 2o ml Lösung r	Adsorbierte Menge Hb(mg) a
152.3	98.4	53.9
135.o	85.o	5o.o
115.6	62.6	53.o
94.5	37.7	56.8
83.3	29.1	54.2
7o.8	17.1	53.7
59.9	9.3	5o.6
55.8	6.3	49.5
46.4	2.2	44.2
41.7	1.2	4o.5
37.2	o.6	36.6
26.9	o.2	26.7

Tab. 11 : Adsorptionsisotherme von Hämoglobin an die poröse Kieselsäure K_1 bei 37°C

Versuchsbedingungen: Menge Adsorbens m:2oo
Milieu: wässrig, pH_7 gepuffert
Temperatur: 37°C

Vorgelegte Menge Hb(mg) in 2o ml Lösung v	Restmenge Hb(mg) in 2o ml Lösung r	Adsorbierte Menge Hb(mg) a
158.5	1o7.2	51.3
135.3	86.7	48.6
111.8	63.5	48.3
1o8.7	59.1	49.6
1o1.1	51.o	5o.1
91.4	4o.4	51.o
87.7	36.7	51.o
82.8	32.8	5o.o
78.1	28.1	5o.o
73.2	23.9	49.3
69.7	19.5	5o.2
64.6	16.1	48.5
58.2	12.6	45.6
54.3	9.3	45.o
5o.o	6.7	43.3
41.2	2.6	38.6
37.2	1.5	35.7
32.4	o.9	31.5
28.1	o.5	27.6
23.4	o.3	23.1
19.2	o.2	19.o
14.5	o.1	14.4
1o.1	o.1	1o.o

Tab. 12 : Adsorptionsisotherme von Hämoglobin an die poröse Kieselsäure K_3 bei 2o°C

Versuchsbedingungen: Menge Adsorbens m :2oo mg K_3
Milieu: wässrig, pH_7 gepuffert
Temperatur: 2o°C

Vorgelegte Menge Hb(mg) in 2o ml Lösung v	Restmenge Hb(mg) in 2o ml Lösung r	Adsorbierte Menge Hb(mg) a
157.5	118.2	39.3
135.o	95.6	39.4
112.5	73.7	38.8
9o.o	48.o	42.o
81.o	38.3	42.7
67.5	25.6	41.9
63.o	21.o	42.o
58.5	17.o	41.5
54.o	12.3	41.7
45.o	4.9	4o.1
4o.5	2.8	37.7
36.o	1.2	34.8
27.o	o.2	26.8
22.5	o.2	22.3
18.o	o.1	17.9

Tab. 13 : Adsorptionsisotherme von Hämoglobin an die poröse Kieselsäure K_4 bei 2o°C

Versuchsbedingungen: Menge Adsorbens m: 2oo mg K_4
Milieu: wässrig, pH_7 gepuffert

Vorgelegte Menge Hb(mg) in 2o ml Lösung v	Restmenge Hb(mg) in 2o ml Lösung r	Adsorbierte Menge Hb(mg) a
133.9	132.7o	1.2
113.4	111.8o	1.6
92.8	91.2o	1.6
83.2	83.2o	o.o
69.7	67.6o	2.1
63.o	62.6o	o.4
62.9	61.9o	1.o
59.3	58.5o	o.8
58.5	57.6o	o.9
55.5	53.8o	1.7
54.o	52.7o	1.3
46.5	44.9o	1.6
45.o	44.6o	o.4
37.5	36.3o	1.2
36.o	34.7o	1.3
28.7	27.oo	1.7
27.o	26.1o	o.9
18.6	17.6o	1.o
18.o	16.7o	1.3

Tab. 14 : Adsorptionsisotherme von Hämoglobin an die unporöse Kieselsäure K_8 bei 2o°C

Versuchsbedingungen: Menge Adsorbens m: 2oo mg K_8
Milieu: Wässrig, pH_7 gepuffert
Temperatur: 2o°C

Vorgelegte Menge Hb(mg) in 2o ml Lösung v	Restmenge Hb(mg) in 2o ml Lösung r	Adsorbierte Menge Hb(mg) a
135.o	85.4	49.6
113.9	64.4	49.5
loo.2	51.8	48.4
84.3	38.2	46.1
69.1	25.7	43.4
62.4	2o.4	42.o
51.7	12.o	39.7
48.2	9.9	38.3
45.o	8.o	37.o
4o.7	5.9	34.8
34.4	2.6	31.8
31.1	1.6	29.5
27.3	o.9	26.4
2o.7	o.4	2o.3
17.o	o.3	16.7

Tab. 15 : Adsorptionsisotherme von Hämoglobin an die unporöse Kieselsäure K_9 bei 2o°C

Versuchsbedingungen: Menge Adsorbens m : 2oo mg K_9
Milieu: wässrig, pH_7 gepuffert
Temperatur : 2o°C

Vorgelegte Menge Hb(mg) in 2o ml Lösung v	Restmenge Hb(mg) in 2o ml Lösung r	Adsorbierte Menge Hb(mg) a
135.o	76.9	58.1
113.9	55.9	58.o
1oo.2	42.2	58.o
84.3	29.o	55.3
69.1	16.7	52.4
62.4	12.4	5o.o
51.7	6.o	45.7
48.2	4.2	44.o
45.o	2.9	42.1
4o.7	1.7	39.o
34.4	o.6	33.8
31.1	o.4	3o.7
27.3	o.2	27.1
2o.7	o.1	2o.6
17.o	o.1	16.9

Tab. 16 : Adsorptionsisotherme von Hämoglobin an die poröse Aktivkohle AK_1 bei 2o°C

Versuchsbedingungen: Menge Adsorbens m : 2oo mg AK_1
Milieu: wässrig, pH_7 gepuffert

Vorgelegte Menge Hb(mg) in 2o ml Lösung v	Restmenge Hb(mg) in 2o ml Lösung r	Adsorbierte Menge Hb(mg) a
152.8	147.2	5.6
134.o	129.9	4.1
112.9	1o7.3	5.6
91.6	87.9	3.7
83.3	76.3	7.o
68.3	63.4	4.9
62.8	57.1	5.7
58.8	53.o	5.8
54.5	48.5	6.o
46.2	35.3	1o.9
41.6	39.6	2.o
37.2	3o.2	7.o
29.o	21.7	7.3
23.1	17.2	5.9
18.9	13.o	5.9

Tab. 17 : Adsorptionsisotherme von Hämoglobin an Kohlegranulat bei 2o°C

Versuchsbedingungen: Menge Adsorbens m: 2oo mg Kohle(= 32o mg Granulat)
Milieu: wässrig, pH_7 gepuffert
Temperatur: 2o°C

Vorgelegte Menge Hb(mg) in 2o ml Lösung v	Restmenge Hb(mg) in 2o ml Lösung r	Adsorbierte Menge Hb(mg) a
153.2	149.4	3.8
133.3	133.9	- o.6*
115.6	112.2	3.4
92.o	92.8	- o.8*
83.8	82.8	1.o
68.8	69.o	- o.2*
64.3	62.o	2.3
6o.6	58.3	2.3
55.3	54.3	1.o
46.1	46.o	o.1
41.6	41.5	o.1
37.6	37.3	o.3
28.4	27.8	o.6
23.7	23.o	o.7
19.4	18.8	o.6

* Die negativen Werte sind durch die Streubreite der Meßwerte bedingt.

Tab. 18 : Desorption des Hämoglobins von der Kieselsäure K_1 in Abhängigkeit von der Zeit ($2o^{o}C$, pH_7 gepuffert)

Versuchs-ansatz Nr.	Desorptions-zeit(Min.)	adsorbierte Hb-Menge(mg) im Adsorbat	desorbierte Hb-Menge(mg)	desorbierte Hb-Menge in % der ursprünglich im Adsorbat gebundenen Hb-Menge
1	3o	51.8	2.1	4.1
2	3o	49.3	1.4	2.8
3	6o	51.9	2.2	4.2
4	6o	49.1	1.5	3.1
5	9o	5o.8	2.o	3.9
6	9o	52.8	2.2	4.2
7	12o	5o.6	1.7	3.4
8	12o	52.3	2.1	4.o
9	15o	5o.8	2.o	3.9
1o	15o	47.8	1.5	3.1
11	18o	5o.8	2.o	3.9
12	18o	52.2	2.2	4.2

Tab. 19 :Desorption des Hämoglobins von der Kieselsäure K_1 in 1o Desorptionsschritten durch kieselsäuregesättigtes Waschwasser ($pH_{7.o}$,gepuffert)

Desorptionsschritt Nr.:	im Adsorbat adsorbierte Menge Hb(mg) vor dem angegebenen Desorptionsschritt a	desorbierte Menge Hb(mg) im angegebenen Desorptionsschritt b	im Adsorbat adsorbierte Restmenge Hb(mg) nach dem angegebenen Desorptionsschritt a-b
1	27.51 (55.o2)	3.54 (7.o8)	23.97 (47.94)
2	23.97 (47.94)	o.99 (1.98)	22.98 (45.96)
3	22.98 (45.96)	o.6 (1.2)	22.38 (44.76)
4	22.38 (44.76)	o.44 (o.88)	21.94 (43.88)
5	21.94 (43.88)	o.35 (o.7)	21.59 (43.18)
6	21.59 (43.18)	o.3 (o.6)	21.29 (42.58)
7	21.29 (42.58)	o.24 (o.49)	21.o5 (42.o9)
8	21.o5 (42.o9)	o.22 (o.44)	2o.83 (41.65)
9	2o.83 (41.65)	o.21 (o.42)	2o.62 (41.23)
1o	2o.62 (41.23)	o.2 (o.4)	2o.42 (4o.83)

Alle Meßwerte sind Mittelwerte aus den vier Versuchsreihen.

Da dieser Versuch im Vergleich zu den übrigen Versuchen mit der halben Adsorbensmenge(o.1 g K_1) und dem halben Volumen(1o ml) durchgeführt wurde, wurden aus Gründen der besseren Vergleichbarkeit alle Meßwerte für die graphische Darstellung mit 2 multipliziert(Werte in Klammern).

Tab. 2o : Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration der Adsorbentien

Adsorbens	pH der Suspension	pH der überstehenden Lösung nach Abtrennen* der ungelösten Partikel
K_1	8.4	8.3
K_2	7.5	7.5
K_3	7.8	7.5
K_4	4.9	5.1
K_5	8.5	8.5
K_6	6.8	6.9
K_7	6.7	6.4
K_8	5.1	6.7
K_9	4.8	5.9
AK_1	8.o	7.6
AK_2	7.8	7.8

Gerät: PH-Meter, Wiss.- Techn. Werkstätten D 812 Weilheim PH 39

* Zum Abtrennen der ungelösten Partikel wurden die Kieselsäuren zentrifugiert, die Kohlen zentrifugiert und filtriert.

Tab.21:

Wassergehalt* verschiedener Kieselsäuretypen

Kieselsäure	Gehalt an physisorbiertem Wasser %
K_4	4,59
K_5	9,3
K_6	11,02
K_7	6,69

*Zur Feststellung des Gehaltes an physisorbierten Wasser("free water") wurden die Kieselsäureproben in bis zur Gewichtskonstanz getrockneten und gewogenen Schalen bei 115°C 24 Std. getrocknet und die Gewichtsdifferenz vor und nach dem Trocknen der Proben festgestellt.

Tab.22: Strukturparameter der untersuchten Adsorbentien

	Adsorbens	Teilchengröße ⌀ in /um	Spez. Oberfläche ($m^2 \times g^{-1}$)	Mittl.Porendurchmesser Å
Poröse Kieselsäuren	K_1	4	26o	18o
	K_2	9	29o(32o)	13o
	K_3	4	3oo	13o
	K_4	1o	8oo	22
	K_5	-	*16o	-
	K_6	-	*24o	-
	K_7	-	23o	-
Nichtporöse Kieselsäuren	K_8	o.o12 /um = 12o Å	23o	nicht porös
	K_9	o.oo7 /um = 7o Å	38o	nicht porös
Aktivkohlen	AK_1	-	* 21oo	-
	AK_2	-	* 75	-
	KG	-	-	-

* Diese spezifischen Oberflächen wurden, wie in Kapitel 3.2.1.2. beschrieben, selbst bestimmt. Die übrigen Daten sind Herstellerangaben.

- = nicht bekannt

Zur weiteren Charakterisierung des Aufbaus der Adsorbentien vgl. Kapitel 4.1.

Tab. 23: Handelsnamen und Hersteller der untersuchten Adsorbentien

	Abkürzung	Handelsname	Lieferant
Poröse Kieselsäuren	K_1	Syloid^{R}244	Fa. Grace,Worms
	K_2	Syloid^{R}74	Fa. Grace,Worms
	K_3	Syloid^{R}72	Fa. Grace,Worms
	K_4	Syloid^{R}Al$_1$	Fa. Grace,Worms
	K_5	Silektron^{R}5o	Fa.Van Baerle,Gernsheim
	K_6	Silektron^{R}7o	Fa.Van Baerle,Gernsheim
	K_7	Ultrasil VN$_3$	Fa.Degussa,Frankfurt
Nichtporöse Kieselsäuren	K_8	Aerosil^{R}2oo	Fa.Degussa,Frankfurt
	K_9	Aerosil^{R}38o	Fa.Degussa,Frankfurt
Aktivkohlen	AK_1	DAB Kohle	Apotheke
	AK_2	Rußkohle Vulcan 3	Fa.Cabot Grossauheim/Main
	KG	Cascan^R Kohlegranulat	Fa.Merck,Darmstadt

7. ZUSAMMENFASSUNG

Anhand von elektronenmikroskopischen Untersuchungen sowie Adsorptions- und Desorptionsexperimenten in vitro wurde versucht, den Wirkungmechanismus eines synthetischen Adsorbens, nämlich kolloidaler Kieselsäure verschiedener Struktur abzuklären.

Im Mittelpunkt der Untersuchungen stand die Wirkung dieser Adsorbentien auf Bakterien und Toxine als pathogenetische Durchfallnoxen.

Durch etwa 100 elektronenmikroskopische Aufnahmen wurden einerseits die Unterschiede der Adsorbentien in ihrem morphologischen Feinbau erfaßt und andererseits ihre Auswirkung auf das Verhalten gegenüber Methylenblau als DAB- Testsubstanz, Hämoglobin als Modellsubstanz für Makromoleküle und Staphylokokken- Enterotoxin sowie Bakterien analysiert.

Folgende Ergebnisse wurden erzielt:

a) Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen zeigten zum Teil erhebliche Unterschiede im Feinbau von Kieselsäuren.

b) Die Adsorptionsversuche mit gelösten Substanzen ergaben eine eindeutige Korrelation zwischen Hohlraumstruktur und dem Adsorptionsverhalten gegenüber kleinen bzw. großen Molekülen.

c) Die Bakterienbindung erfolgt offenbar über einen anderen Mechanismus, der weitgehend strukturunabhängig ist.

d) Die im Hinblick auf die therapeutische Wirksamkeit als Darmadsorbens durchgeführten Desorptionsversuche zeigen, daß die Moleküladsorption zu stabilen Adsorbaten führt und somit eine Ausscheidung von Toxinen mit dem Stuhl erfolgen kann.

8. LITERATURVERZEICHNIS

1) Ewe,K.: Therapiewoche, 2491 (1974)

2) Wanitschke,R.: Pharmazie in unserer Zeit,Heft 2 (1975)

3) Ewe,K.: Med. Klin. 7o,14o8-1416(1975)

4) Werner,G.T.,Walterspiel,J.N.:Med.Klin.73, 131o-1319(1978)

5) Sanwald,R.,Moskwa,G.: diagnostik 1o, 361-366 (1977)

6) Holtermüller,K.H.: Therapiewoche,2537 (1974)

7) Weis,H.J.:Therapiewoche,2492-25o4 (1974)

8) Roth,H.J.: Schriftenreihe der Bundesapothekerkammer zur wissenschaftlichen Fortbildung (Davos 1977), Bd. III,133 (1977)

9) Professor H.Spitzy,Antibiotikaspezialist der Med.Universitätsklinik Wien,Vortrag beim 18.Ärztekongress in Velden am 18.5.1966

1o) Braun,O.H.:Fortschr. Med. 94,545-547 (1976)

11) Jung,H.: Pharmazie 3,278-283(1948)

12) Wedler,G.:Adsorption,Chemisches Taschenbuch 9 Verlag Chemie 197o

13) Iljin,B.W.: Die Natur der Adsorptionskräfte,VEB Verlag 1954

14) Rupprecht,H.:Mitt.Dtsch.Pharm.Ges. 4o,3-23 (197o)

15) Bannasch,W.,Stamm,H.-H.:Silikagel als Austauschadsorbens,Literaturübersicht,Kernforschungszentrum,Karlsruhe 1964

16) Patrick,W.A.,Barclay,E.H.:Phys.Chem.29,14oo-14o5(1925)

17) Kohlschütter,H.W.,Hofmann,G.:Anorg.Allg.Chem.327,51-62(1964)

18) Kohlschütter,H.W.,Getrost,H.:Anal.Chem. 167,264-268(1959)

19) Ahrland,S.,Grenthe,I.,Noren,B.:Acta Chem.Scand. 14,1o59-1o76(196o)

2o) Milone,M.,Cetini,G.: Atti acad. sci. Torino.I.Classe sci. Fis.mat.e nat. 9o,3-12(1956)

21) Nikolskii,B.P., Grigorov,O.N.:Doklady Akad.Nauk. SSSR 5o,325-327(1945)

22) Kishi,H.:J.chem.Soc.Japan 63,715-733 und 668 (1942)

23) Ganguly,A.K.:Phys.Colloid Chem.55,1417-1428(1951)

24) Maatman,R.W.et al.:Phys.Chem.68,76o(1964)

25) Breccia,A.,Spalletti,F.:Nature 198,756-758(1963)

26) Hofmann,A.: Dissertation Universität München 1966

27) Kautsky,H.,Sauksl,H.:Elektrochem. 63,355-36o(1959)

28) Czetsch-Lindenwald,H.:Sci.Pharm. 27,228(1959)

29) Giles,C.H. et al.:Trans.Faraday Soc. 62,1963(1966)

3o) Brooks,C.S.:Kolloid-Z. 199,31(1964)

31) Baumann,H.:Beiträge Silikoseforschung Heft 35,5-52(1955)
32) Stephan,W.,Röka,L.: Klin.Chem.Klin.Biochem. 186-19o(1968)
33) Siebke,J.C.,Kjeldsberg,E.,Traavik,T.:Acta path.microbiol.Scand. Section B.8o,935-936(1972)
34) Rupprecht,H.,Kindl.G.,Biersack,M.J.:Pharmazie 29,2o7-2o8(1974)
35) Rupprecht,H.,Liebl,H.,Ullmann,E.:Pharmazie 28,759-762(1973)
36) Henigst,W.:Zentralbl.Bakteriol.Parasitenkd.Infektionskr.Hyg.Abt.1: Orig.Reihe A:218,28o-285(1971)
37) Mattern,C.F.T.:Virology 17,52o(1962)
38) Stephan,W.,May,G.:Z.Klin.Chem.u.Klin.Biochem.,191-192(1968)
39) Valentine,R.C.,Allison,A.C.:Biochim.Biophys.Acta.34,1o-23(1959)
4o) Krüger,B.: Hyg. VII,86-114(1889)
41) Starkenstein,E.: Münch.Med. Wochenschr. 62,27-29(1915)
42) Swalm,W.A.:Med.Rec. 14o ,26 (1934)
43) McRobert,G.R.: Br.Med.J. 2,3o4-3o5 (1934)
44) Mills, C.A.:Lab. Clin. Med. 2o, 8o1- 8o5 (1935)
45) Kuhn,Ph.: Med. Klin. Munich,1o23-1o24(1915)
46) Kuhn,Ph.,Heck,H.: Med.Klin.Munich 12,152-153(1916)
47) Salus,G.:Biochem.Z. 84,378-381(1917)
48) Michaelis,L.:Berl.Klin. Wochenschr.3o(1918)
49) Eisenberg,Ph.:Zentralbl.Bakteriol.Parasitenkd.Infektionskr.Hyg. Abt. 1:Orig. 81,72-1o4(1918)
5o) Chudiakow,N.N.:Zentralbl.Bakteriol.Parasitenkd.Infektionskr.Hyg. Abt.2: 68, 345-359 (1926)
51) Müller,G.,Hickisch,B.: Zentralbl.Bakteriol. Parasitenkd.Infektionskr. Hyg.Abt.2: 125,333-362(197o)
52) Kienholz,M.: Pharm.Ind. 32, 677- 679(197o)
53) Iler,R.K. in E.Matijević,Hg.:Surface and Colloid Science, Volume 6 John Wiley & Sons 1973
54) Boettcher,A.:Kautschuk,Gummi 3, 357 (195o)
55) Graham,Th.: Liebigs Ann.Chem. 121,1(1862)
56) Bird,P.G.,U.S.Pat 2, 244,325 (1941)
57) Alexander,G.B.: U.S. Pat 2,75o,345(1956)
58) Atkins, R.C.: U.S.Pat 3,o92,173(1961)
59) Stöber,W.,Fink,A.: Colloid Interface Sci.26,62 (1968)

60) Kohlschütter,H.W.,Mihm,U.:Kolloid-Z.Z.Polym. 243,148(1971)

61) Mindick,M.,Reven,L.E.:U.S.Pat. 3,342,747(1967)

62) Rupprecht,H.: Mitt.Dtsch.Pharm.Ges. 4o, 3 (197o)

63) WHO:Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization, FAO Nutrition Meetings Report Series No.46 A, p 143-7

64) INBIFO(Institut für biologische Forschung,Köln,April 2,1975 unveröffentlicht

65) Leuschner,F.:Gutachten v.2.1.1963

66) Kuschinsky,G.:Gutachten v. 3.8.1955

67) Stasenkova,K.P. et al.:Sov.Rubber Technol.28,22(1969)

68) Leuschner,F.: Gutachten v. 23.5.1972

69) Sarre,H.J.:Gutachten v. 11.3.1953

7o) Fa.Grace,The Biological Aspects of Syloid^{R},Report Nr.S0501,Nov.1975

71) Mohn,G.: Grundfr.Silikose- Forsch.5, 133 (1963)

72) Mohn,G.: Beitr.Silikose-Forsch.23,227 (1971)

73) Stalder,K.: Beitr.Silikose- Forsch.22,5,237(197o)

74) Brauch,V.,Zemlin,H.:Verfahrenstechnik 6,39o (1972)

75) Mühlemann,H.,Hofstetter,R.:Pharm.Acta Helv. 38,474(1963)

76) Juhola,A.J.: Report 4oo,S.9 Nov.1(1951)

77) Schwerd,W.:Der rote Blutfarbstoff und seine wichtigsten Derivate, Verlag Max- Schmidt- Römhild Lübeck ,1962

78) Karlson,P.:Biochemie,Georg Thieme Verlag 197o

79) Dickerson,Geis:Struktur und Funktion der Proteine,Verlag Chemie 1971

8o) Borja,C.R. et al.:J.Biol.Chem. 247,2456(1972)

81) Jawetz,E.et al.:Med.Mikrobiologie,Springer-V. 1973

82) Reimer,L.:Elektronenmikroskopische Untersuchungs- und Präparationsmethoden,Springer Verlag Berlin 1967

83) Deželič et al.:Kolloid-Z. 171,42(196o)

84) Haul,R.,Dümbgen,G.:Chem.Ing.Tech.32,349(196o)

85) Haul,R.,Dümbgen,G.:Chem.Ing.Tech.35,586(1963)

86) Emmett,P.H.,Brunauer,S.:J.Am.Chem.Soc.59,1553,2682(1937)

87) Brunauer,S.,Emmett,P.H.,Teller,E.:J.Am.Chem.Soc. 6o,3o9(1938)

ibid. 67,2182(1945)

ibid. 68,1784(1946)

88) Biersack,M.-J.: Dissertation ,Universität München 1975
89) Radczewski,E.,Richter,H.: Kolloid-Z. 96, 1 (1941)
9o) Kautsky,h.:Naturforsch. 17b, 491 (1962)
91) Iler,R.K.in:E.Matijević,Hg.:Surface and Colloid Science,Volume 6 John Wiley & Sons 1973,S.3-1oo
92) Sutherland,D.N.:J.Colloid and Interface Sci. 25,373 (1967)
93) McBain, : J.Am.Chem. Soc. 57,699(1935)
94) Langmuir,I.:J.Am.Chem.Soc. 4o,1361(1918)
95) Wedler,G.: Adsorption,Verlag Chemie 197o
96) Gunnison,J.B.,Marshall,M.S.:J.Bacteriol. 33,4o1(1937)
97) Freundlich,H.:Kapillarchemie Leipzig 1922
98) Kendall,A.I.:Colloid Symp.Monogr. 2,195(1925)
99) Tittsler,R.R.,Berry,G.P.: J.Bact. 35,213(1938)
1oo) McCalla,T.M.:J.Bacteriol.4o,23(194o)
1o1) Mysels,K.J.: Introduction to Colloid Chemistry,New Jork 1959
1o2) Depasse,J.,Wattillon,A.: J.Colloid Interface Sci. 33,43o (197o)
1o3) Liehr,H.,Grün,M.: Internist 17,122(1976)
1o4) Vortrag beim 18.Ärztekongress in Velden am 18.5.1966, Professor H.Spitzy,Med. Universitätsklinik Wien
1o5) Kohlrausch,F.:Praktische Physik 1,41(1968)
1o6) Zeldowitsch,J.: Acta physicochim. URSS 1, 961 (1934)

Die Adsorptions- und Desorptionsmessungen der vorliegenden Arbeit wurden in der Medizinischen Mikrobiologie für Pharmazeuten unter der Betreuung von Herrn Professor Dr. B. Wiedemann, die elektronenmikroskopischen Untersuchungen in der Arbeitsgemeinschaft für Festkörperoberflächen unter Anleitung von Herrn Dr. A. Maas durchgeführt.

Herrn Professor Dr. B. Wiedemann danke ich besonders für die unermüdliche Förderung dieser Arbeit durch wertvolle Anregungen und Diskussionshinweise.

Ich danke Herrn Dr.A. Maas, dem Leiter der Arbeitsgemeinschaft für Festkörperoberflächen,und seinem Mitarbeiter Herrn J. Ensikat für die ständige Unterstützung der elektronenmikroskopischen Untersuchungen.

Herrn Professor Dr. Ing.L.v.Erichsen danke ich für die Bereitstellung der BET-Apparatur zur Bestimmung der spezifischen Oberflächen, und Herrn H.Meusemann für die Mithilfe bei der Erstellung des Rechenprogramms für die Adsorptionsisothermen.

Lebenslauf

Rita Kugelmeier	geboren am 9.7.1948 in Konstanz als Tochter des Arztes Dr.Herbert Lemke und seiner Ehefrau Gisela, geb. Knapp
Schulbildung	1954-1959 Volksschule in Siegburg 1959-1965 Mädchengymnasium in Siegburg 1965-1967 Clara- Schumann- Schule in Bonn
Reifeprüfung	1967
Praktikantenzeit	1967-1969 Marienapotheke in Hennef
Pharmazeutisches Vorexamen	24.9.1969
Studium der Pharmazie an der Universität Bonn	15.1o.1969- 16.2.1973
Pharmazeutische Prüfung	16.2.1973
Wissenschaftliche Arbeit	1974-1979 Dissertation unter der Betreuung von Herrn Professor Dr.B.Wiedemann am Institut für Medizinische Mikrobiologie für Pharmazeuten der Universität Bonn